Année Scolaire 1968
N° d'ordre : 4

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR EN PHARMACIE (Diplôme d'État)

PAR

DENIS GRENIER

Bachelier ès Sciences (Pharmacie) (Université Laval, Québec)
Diplômé d'Études Supérieures de Pharmacodynamie et d'Essais Biologiques des Médicaments
Diplômé d'Études Supérieures de Contrôle Physico-Chimique des Médicaments
né le 13 Juillet 1941 à QUÉBEC (Québec)

1ère Thèse - Leucocyanidol et Croissance Végétale

2ème Thèse - Les Dérivés Anthracéniques du Séné

soutenues le 1er Juin 1968 devant la Commission d'Examen

MM. J. MASQUELIER, Professeur . . . . . PRÉSIDENT

J. CANELLAS, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS

R. BAUTE, Agrégé . . . . . }

Éditions Bergeret 2, rue Bergeret BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. G. PORTMANN, R. SIGALAS.
DOYEN : M. F. TAYEAU. — ASSESSEURS : MM. P. LAUMONIER, N...

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, CHARRIER, DUBREUIL, CREYX, DARGET, R. SIGALAS, G. PORTMANN, M. RIVIÈRE, R. GIRARD, C. PIFFAULT, R. FABRE, R. DUFOUR, P. FOURMENT, E. AUBERTIN, X. J. DUBECQ, L. MASSÉ, A. LACHAPÈLE, R. DE GRAILLY, G. VITTE.

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	
N.....	Pharmacie chimique et pharmacodynamie.
P. DELMAS-MARSALET....	Clinique des maladies nerveuses et mentales.
P. DERVILLÉE.....	Médecine légale et Médecine du travail.
R. MANDOUL.....	Zoologie et parasitologie.
R. CASTAGNOU.....	Toxicologie et hygiène appliquée.
J. REBOUL.....	Carcinologie.
P. MESNARD.....	Chimie organique et Chimie analytique.
R. GRANDPIERRE.....	Physiologie.
P. BROUSTET.....	Clinique médicale cardiologique.
J. MAGENDIE.....	Clinique chirurgicale.
F. TAYEAU.....	Biochimie médicale A.
G. MAYER.....	Histologie et embryologie.
P. BLANQUET.....	Physique nucléaire appliquée et radiobiologie.
N.....	Pathologie générale et expérimentale.
R. SARIC.....	Clinique médicale.
L. POUYANNE.....	Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique.
J.-J. DUBARRY.....	Hydro-climatologie thérapeutique et clinique des maladies de l'appareil digestif.
F.-J. TRAISSAC.....	Clinique thérapeutique.
R. MAHON.....	Clinique d'accouchements.
R. PAUTRIZEL.....	Immunologie et biologie parasitaire.
M^lle G. ROUGIER.....	Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports.
G. MOUSTARDIER.....	Bactériologie.
E. BESSIÈRE.....	Clinique ophtalmologique.
H. LEGER.....	Anatomie pathologique.
J. MASQUELIER.....	Matière médicale.
G. MORETTI.....	Clinique médicale propédeutique et médecine tropicale.
J. DESPONS.....	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.
P. LAUMONIER.....	Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire.
J. LENG-LÉVY.....	Clinique médicale et des maladies infectieuses.
R. LETAC.....	Pathologie et recherche chirurgicales.
R. QUILICHINI.....	Pharmacie galénique.
E. NEUZIL.....	Biochimie médicale B.
R. STOLL.....	Biologie.
J. LANGE.....	Clinique urologique.
P. FRÉOUR.....	Hygiène et Clinique de pneumophtisiologie.
F. RIGAUD.....	Anatomie.
J. FAURE.....	Physio-pathologie et neuro-physiologie.
G. DUBOURG.....	Clinique chirurgicale des maladies cardiaques.
J. VILLAR.....	Clinique gynécologique.
P. LE COULANT.....	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
M. BERGOUIGNAN.....	Pathologie nerveuse et mentale.
J. DUHAMEL.....	Physique médicale et pharmaceutique.
N.....	Sémiologie médicale.
H. CHOUSSAT.....	Pathologie médicale.
L. CHASTRUSSE.....	Clinique obstétricale.
P. VERGER.....	Clinique médicale des maladies des enfants.
F. LAPORTE.....	Chirurgie générale.
R. TINGAUD.....	Clinique chirurgicale.
N.....	Sémiologie chirurgicale.
H. LAUBIE.....	Botanique et cryptogamie.
Cl. RICHIR.....	Anatomie pathologique.
R. GOLSE.....	Chimie générale et Chimie minérale.
J. BAILENGER.....	Zoologie et biologie animale.
J.-Cl. COLLETER.....	Chimie analytique.
H. BRICAUD.....	Médecine générale.
P. BENOIT.....	Clinique odonto-stomatologique.
Cl. MARTIN-DUPONT.....	Clinique néphrologique
J. CANELLAS.....	Pharmacodynamie et hydrologie.
G. DELORME.....	Electroradiologie.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.	
R. CANIVENC.....	Histologie.
J. RIVIÈRE.....	Médecine générale.
J. DAVID-CHAUSSÉ.....	Médecine générale.
J. MARQUEVIELLE.....	Biochimie médicale.
H. DULONG DE ROSNAY...	Bactériologie.
M. BLANC.....	Neuro-psychiatrie.
Cl. MASSÉ.....	Chirurgie générale.
R. MARAUD.....	Histologie et embryologie.
P. DU PASQUIER.....	Bactériologie.
J. STAEFFEN.....	Médecine générale.
J.-P. DUBECQ.....	Obstétrique.
R. CROCKETT.....	Chimie organique et chimie analytique.
G. NEVERRE.....	Physiologie.
A. SERISÉ.....	Hygiène.

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS :

MM.	
J. MEUNIER	Histologie.
P. FERRET-BOUIN	Physique médicale.
R. JENSEN	Chimie biologique.
J. VIDEAU	Anatomie.
J. BROUSSIN	Electroradiologie.
A. CASTAING	Médecine générale et thérapeutique.
R. TESSIER	Pneumo-phtisiologie.
Mme J. SÉCHET	Biochimie médicale.
C. LAGARDE	Carcinologie.
C. BÉRAUD	Thérapeutique.
H. LAZARINI	Médecine légale et Médecine du travail.
J. SOUMIREU-MOURAT	Obstétrique.
G. CABANIEU	Médecine générale.
R. LE LOURD	Pneumo-phtisiologie.
L. COURAUD	Chirurgie générale.
J. BENTÉGEAT	Hématologie.
Cl. VRIGNAUD	Physique pharmaceutique.
M. BERGER	Oto-rhino-laryngologie.
P. SOURREIL	Dermato-vénéréologie.
L. ARNÉ	Médecine générale et thérapeutique.
Cl. MARTIN	Pédiatrie.
R. BAUTE	Cryptogamie.
V. DARGELOS	Microbiologie.
Mlle S. LARCEBAU	Toxicologie.
C. WONÉ	Médecine générale et thérapeutique.
J. JULIEN	Médecine générale et thérapeutique.
J.-J. BATTIN	Pédiatrie.
M. DALLOCCHIO	Cardiologie et maladies vasculaires.
J. AUBERTIN	Maladies infectieuses.
P. VÉRIN	Ophtalmologie.
M. GOT	Neuro-chirurgie.
J. TAVERNIER	Electroradiologie : diagnostic et thérapeutique.
J. VINCENT	Physiologie et explorations fonctionnelles.
L. CHEVAIS	Anesthésiologie.
G. GILLARDEAU	Anesthésiologie.
J. HONTON	Orthopédie et traumatologie.
M. BOMBART	Orthopédie et traumatologie.
A. HUGUES	Cancérologie.
M. SABATHIÉ	Anesthésiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.	
J. DEPAULIS	Chirurgie générale.
P. DARMAILLACQ	Chirurgie générale.
L. CORCELLE	Ophtalmologie.
M. PORTMANN	Oto-rhino-laryngologie.
P. BLANCHOT	Médecine générale.
L. DOUTRE	Chirurgie générale.
F. BALLANGER	Urologie.
P. BIRBIS	Chirurgie générale.
J.-P. CALAMEL	Chirurgie générale.
L. TEXIER	Dermato-syphiligraphie.
H. POUYANNE	Neuro-chirurgie.

AGRÉGÉS LIBRES

MM.	
G. FAUGÈRE	Obstétrique.
M. L'ÉPÉE	Médecine légale.
H. CABANIÉ	Anatomie.

CHARGÉS DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES :

MM.	
P. BONJEAN	Anatomie.
M. LAHOURCADE	Parasitologie.
M. SENTENAC	Anatomie.
G. DELMON	Anatomie pathologique.
J. TRIBOULEY	Immunologie, sérologie.
F.-X. MICHELET	Stomatologie.

L'Attaché d'administration universitaire, chef des Services administratifs :

Mme M. C. CHAPENOIRE.

UNIV. LEIDEN BIBL.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

Année Scolaire 1968
N° d'ordre : 4

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR EN PHARMACIE (Diplôme d'État)

PAR

DENIS GRENIER

Bachelier ès Sciences (Pharmacie) (Université Laval, Québec)
Diplômé d'Études Supérieures de Pharmacodynamie et d'Essais Biologiques des Médicaments
Diplômé d'Études Supérieures de Contrôle Physico-Chimique des Médicaments

né le 13 Juillet 1941 à QUÉBEC (Québec)

1ère Thèse - Leucocyanidol et Croissance Végétale

2ème Thèse - Les Dérivés Anthracéniques du Séné

soutenues le 1er Juin 1968 devant la Commission d'Examen

MM. J. **MASQUELIER**, Professeur . . . . . PRÉSIDENT

J. **CANELLAS**, Professeur . . . . . } EXAMINATEURS

R. **BAUTE**, Agrégé . . . . . }

Éditions Bergeret 2, rue Bergeret BORDEAUX

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543917_0012

LEUCOCYANIDOL ET CROISSANCE VEGETALE

AVANT - PROPOS

Les mots nous manquent pour exprimer au Professeur MASQUELIER, Assesseur du Doyen, toute la gratitude qu'il nous inspire. Instigateur premier de notre séjour en France, l'accueil qu'il nous a accordé en son laboratoire nous aura marqué pour toujours. Perpétuellement disponible, remarquablement ouvert à tous les problèmes, il nous fit quotidiennement bénéficier de sa riche expérience pour nous en laisser les fruits.

Ne se contentant pas de nous assurer l'accès à sa très vaste science, notre Maître nous fit aussi l'insigne honneur de son amitié ; ainsi placé, grâce à lui, dans une situation privilégiée, nous eûmes le plaisir constant d'apprécier ses rares qualités de cœur, son humanisme profond. Sa sollicitude sans bornes à notre égard, à laquelle s'est associée de façon peu commune Madame MASQUELIER, leur bienveillance de tous les instants les assurent de notre attachement le plus grand et de toute notre reconnaissance.

A Monsieur le Professeur CANELLAS qui, plus d'une fois nous a si largement ouvert les portes de son laboratoire et nous a fait l'immense joie de siéger dans notre jury de thèse, nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Agrégé BAUTE qui a bien voulu nous faire l'honneur de siéger dans notre jury de thèse, un très cordial merci .

A Monsieur le Professeur LAUBIE qui nous a témoigné son intérêt en acceptant de siéger au comité de lecture, sincère merci .

A Monsieur le Professeur Agrégé DARGELOS qui nous a permis à plusieurs reprises de travailler à ses côtés, nous assurant de son intérêt et de son amitié, et qui nous fait le plaisir d'accepter de siéger dans le comité de lecture, nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements et notre très respectueux et amical souvenir .

Il nous est aussi très agréable de pouvoir exprimer nos remerciements à toutes les personnes qui ont apporté leur collaboration à la réalisation de ce travail :

- Monsieur le Professeur NEUZIL qui nous a complaisamment permis l'accès du merveilleux appareillage de son laboratoire .

- Monsieur le Professeur Agrégé JENSEN qui nous a largement et gentiment ouvert son laboratoire pour nous permettre d'y effectuer plusieurs de nos préparations .

- Monsieur J. MICHAUD , Chef de travaux , au Laboratoire de Matière Médicale, dont nous appréciâmes si souvent la compétence et la gentillesse .

- Madame H. JENSEN, Chef de travaux, qui eut la complaisance de nous accueillir dans ses locaux .

- Madame D. DELAUNAY-BRETELLE, Chef de travaux, dont l'amitié nous fut des plus précieuses .

- Mademoiselle M. F. LESCA , assistante , collaboratrice aimable, amicale et toujours prête à nous rendre service .

- Monsieur P. COURTOIS , assistant, qui nous a consacré beaucoup de son temps avec tant de gentillesse .

- Mademoiselle J. TRIAUD , dont la collaboration et l'amitié nous furent tant de fois propices .

- Enfin, tous les membres du Laboratoire de Matière Médicale qui nous manifestèrent toujours leur amitié et leur intérêt .

INTRODUCTION

°°°

Des plantes exclusives, la littérature botanique ne fait que de très timides mentions (3) (18) (39) (49) (131). Ce caractère écologique propre à certains végétaux se vérifie toutefois aisément pour peu qu'on ait l'occasion de fréquenter la nature ou qu'à défaut de ces plaisirs champêtres, on veuille bien jeter un coup d'œil sur le jardin de sa maison, siège lui aussi de manifestations phyto-sociologiques .

A cet égard, c'est la famille des Cistacées représentée par les genres Cistus et Helianthemum, largement répandus dans le bassin méditerranéen, qui fut l'objet de nos premières interrogations . En effet, ces plantes fort peu sociables, c'est le moins qu'on puisse dire , semblent se complaire dans un isolement qui ne manque pas d'étonner . Dans leur voisinage immédiat, on a peine à déceler la présence d'autres végétaux, ce qui justifie l'appellation de "plantes exclusives" qu'elles se voient attribuer fréquemment .

Intéressé par un phénomène qui a quand même retenu l'attention de certains auteurs (39) (50) (78), nous avons été amené à prendre connaissance des travaux effectués en se sens par LEEMAN-LOPES et DUBECQ (79)

qui constatent que des extraits aqueux de différents organes de Cistes, notamment les feuilles et les tiges, déterminent une très nette inhibition de la germination des graines de plusieurs espèces végétales. Selon ces mêmes auteurs, il faut attribuer cet antagonisme particulièrement énergique à un facteur hydrosoluble et thermostable. N'y aurait-il pas là un élément d'explication au curieux phénomène des plantes exclusives ?

Plus près de nous, un végétal dont la région du Sud-Ouest est particulièrement riche, le Pin maritime, semble manifester les mêmes propriétés. Une brève promenade dans les Landes voisines suffit pour s'en convaincre. En effet, dans les forêts de Pins, la végétation est assez clairsemée. Au surplus, l'absence de plantes coïncide avec la présence de ses feuilles (aiguilles) qui jonchent le sol. On retrouve un phénomène analogue sous les Pins de nos jardins d'où la végétation (nous pensons en particulier au gazon) semble exclue ou tout au moins freinée.

Il est par conséquent logique de se demander si le Pin ne se comporte pas lui aussi comme une plante exclusive. C'est pourquoi il nous vint aussitôt à l'esprit de vérifier l'éventuel pouvoir inhibiteur des aiguilles et de leurs extraits aqueux sur la germination des graines. C'est ce que nous fîmes en pensant bien sûr au leucocyanidol (5, 7, 3', 4'-tétrahydroxy-flavanne-3, 4-di-ol), un polyphénol avec lequel le laboratoire du Professeur MASQUELIER est déjà très familier. Cette leucoanthocyanne que le Pin renferme dans chacun de ses organes est du reste hydrosoluble. De là à se demander si le leucocyanidol ne constitue pas précisément le facteur responsable de ce comportement végétal spécial, il n'y avait qu'un pas que nous n'avons pas tardé à franchir.

Une fois adoptée cette direction, il était convenable de rechercher un mécanisme permettant d'expliquer l'action soupçonnée du produit . C'est ainsi qu'il nous fut donné de nous rendre compte de l'importance de l'acide indole-acétique et des autres phyto-hormones dans les phénomènes de croissance végétale, ce qui nous amena progressivement au très vaste domaine des auxines (acide indole-acétique surtout) et en particulier de leur métabolisme enzymatique, que le leucocyanidol aussi bien que de très nombreuses substances phénoliques sont susceptibles d'influencer . Nous sommes en fait en plein domaine des régulateurs de la croissance végétale .

Conscient au départ de l'étendue des recherches effectuées avant nous sur ces questions, nous n'avons jamais eu la présomption d'apporter à ces problèmes des réponses définitives . Nous avons seulement pensé qu'il était intéressant d'essayer de percer de façon modeste mais néanmoins sincère, une infime partie des mystères de cet univers végétal dont l'organisation et la complexité suscitent à la fois étonnement et admiration .

PREMIERE PARTIE

ETAT DE LA QUESTION

LES PHENOLS :

REGULATEURS DE CROISSANCE

L'incontestable abondance des substances phénoliques chez les végétaux ne saurait être pure fantaisie de la nature . Le concept traditionnel attribuant aux phénols un rôle passif dans la vie des plantes a vu diminuer le nombre de ses adeptes à mesure que les recherches poursuivies par les phytochimistes ont permis la découverte de quantité de ces produits dans le règne végétal . Loin désormais de considérer ces constituants naturels comme le terme des réactions métaboliques, on s'est plutôt mis à la recherche de leurs rapports possibles avec la physiologie dans l'espoir d'en dégager une éventuelle fonction chez le végétal .

Cette orientation nouvelle allait donner naissance à de très nombreuses hypothèses, souvent contradictoires, mais toutes conscientes de l'appartenance vraisemblable des substances phénoliques à la classe des " régulateurs de croissance végétale", affectant tout aussi bien la germination des graines que la croissance proprement dite . D'ailleurs, certains auteurs n'hésitent pas à les impliquer dans les phénomènes de la rhizogénèse , de la dominance apicale et de l'abscission . C'est ce que rapporte GASPAR (42) qui souligne également leur intervention possible comme agents intermédiaires dans de multiples réactions contrôlées par le phytochrome .

Nous intéressant d'abord dans un premier temps aux inhibiteurs ordinaires, nous envisagerons ensuite dans un second chapitre une question qui ne s'en sépare pas, à savoir celle des inhibiteurs synergiques, dont l'appellation paradoxale réfère à leur effet potentialisateur de la croissance induite .

CHAPITRE I

INHIBITION DE LA GERMINATION ET DE LA CROISSANCE

°°°

A) NAISSANCE ET EVOLUTION DES THEORIES CONCEPT MODERNE .

Selon GARB (39) c'est DE CANDOLLE qui le premier en 1832, a mentionné l'existence d'inhibiteurs naturels de la croissance . Sécrétées par les plantes, ces substances empêcheraient la croissance d'autres végétaux, d'où l'importance écologique que cet auteur leur attribue . Après avoir d'abord souscrit à cette théorie mettant en cause une espèce de compétition ou d'antagonisme entre les plantes, LIEBIG, vingt ans plus tard, en arrive plutôt à considérer le phénomène comme le résultat de variations quantitatives des éléments normalement présents à l'état de traces et dont il avait déjà constaté l'importance sur la croissance . La notoriété de LIEBIG donnant du poids à son explication, l'intérêt suscité par les inhibiteurs devint très faible pendant le demi-siècle qui suivit .

Mais en 1909, à l'occasion d'études sur l'infertilité de certains sols, SCHREINER et ses collaborateurs postulent la présence chez ceux-ci d'inhibiteurs de croissance qu'ils réussissent à isoler et à purifier . Toutefois

les différentes écoles ne parviennent pas à se dégager de leur scepticisme, séquelle des conceptions anciennes, de telle sorte qu'en 1937 LOEHWING pouvait encore mettre sérieusement en doute l'existence de ces substances.

Toutefois, à la suite de leurs nombreux travaux, BONNER et Coll. (17) devaient conclure entre 1940 et 1950 à l'existence réelle, chez les plantes, d'inhibiteurs de la croissance végétale, existence reposant dès lors sur des bases irréfutables .

L'intérêt suscité par la question ces dernières années n'a cessé de croître . Les recherches poursuivies en Europe aussi bien qu'aux Etats-Unis n'ont pu que confirmer la distribution universelle de ces substances dont l'importance en tant que régulateurs de la croissance des plantes se discerne chaque jour davantage et dont les applications pourraient éventuellement déborder le cadre de la physiologie végétale et trouver notamment une utilité en médecine (39) .

B) NATURE CHIMIQUE DES INHIBITEURS .

MORELAND et Coll. (101) proposent une classification des inhibiteurs qui se fonde sur leur volatilité . Ils distinguent de la sorte inhibiteurs volatils et non volatils .

1) Inhibiteurs Volatils :

On considère qu'ils proviennent en général de la décomposition de certaines substances naturellement présentes chez les plantes . Leurs principaux représentants sont l'éthylène, l'acide cyanhydrique, l'ammoniac,

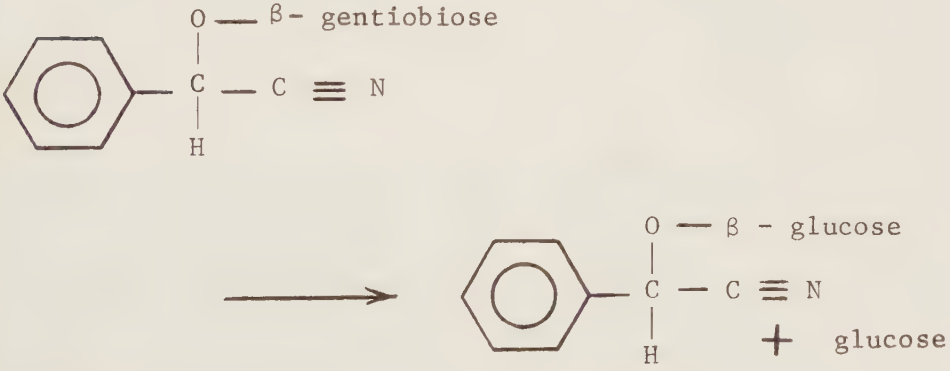
les huiles sulfurées (iso-thiocyanate d'allyle, etc .....) et les huiles essentielles par le truchement de leurs constituants aldéhydiques, terpéniques et phénoliques .

2) Inhibiteurs Non Volatils :

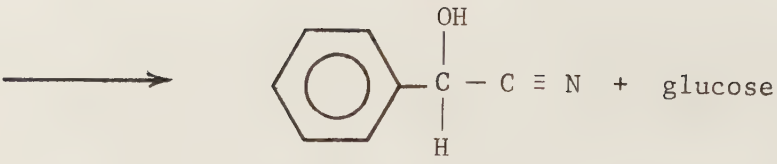
Ce sont surtout des hétérosides, des lactones, des amino-acides et des substances phénoliques .

a) HETEROSIDES :

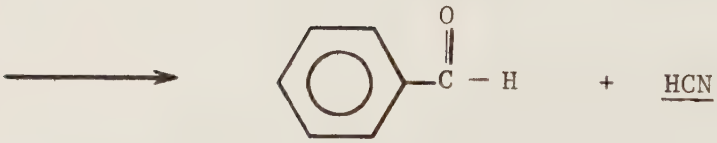
Ils sont essentiellement représentés par une substance qu'on rencontre dans les graines et les feuilles de diverses Rosacées (Amandier, Cerisier, Prunier, Pêcher et Pommier), l'amygdaline, dont la dégradation enzymatique donne naissance à HCN, et par la glucobrassicine isolée de plusieurs espèces de Brassica . Sous l'action de la myrosinase, cette substance libère le 3-indoleacétonitrile (101) .



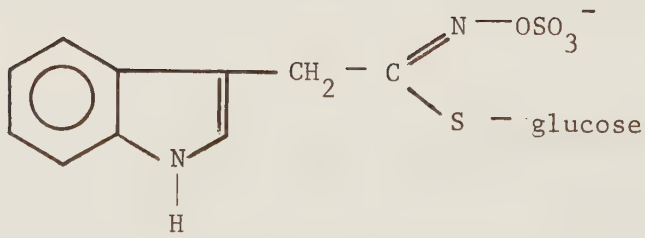
amygdaline *prunassine*



mandelonitrile



benzaldéhyde

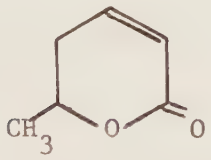


glucobrassicine

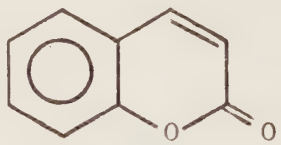
A cela s'ajoutent des hétérosides isolés des Liliacées, Amaryllidacées et Dioscoréacées, saponines à qui NORD et VAN ATTA (109) reconnaissent aussi des propriétés inhibitrices .

b) LACTONES :

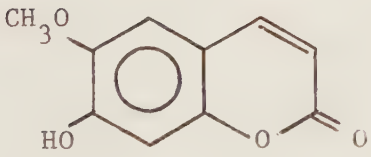
On retrouve, parmi cette classe de composés, l'acide parasorbique isolé des fruits de Sorbus aucuparia, la coumarine et ses dérivés(scopolétine, umbelliférone, esculétine, esculine, daphnétine et limettine ; psoralène et autres furanocoumarines rencontrés chez de très nombreuses espèces végétales (5) (15) (25) (28) (101)), et la protoanémonine que renferment les genres Anemone et Ranunculus de la famille des Renonculacées (101) .



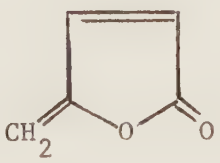
acide parasorbique



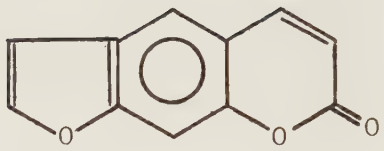
coumarine



scopolétine



protoanémonine



psoralène (furanocoumarine)

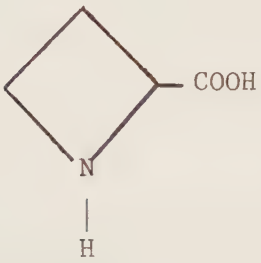
c) AMINO-ACIDES :

Des études ayant pour objet le métabolisme azoté des plantes ont conduit à l'identification de plus de 60 acides aminés qui ne sont pas considérés comme des constituants normaux des protéines . Ces amino-acides présentent une distribution limitée et on considère qu'ils existent à l'état libre . Leur fonction en rapport avec le métabolisme végétal et la croissance demeure obscure . Toutefois on estime qu'ils pourraient :

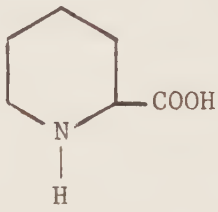
1) participer directement à la biosynthèse ou à la biodégradation de certaines protéines ,
2) représenter des formes de stockage ou de transport de l'azote
3) ou encore agir comme régulateurs de la synthèse et du métabolisme protéinique .

Parmi ces substances, certaines manifestent des propriétés inhibitrices marquées vis-à-vis des végétaux . C'est le cas de l'acide azétidine-2-carboxylique, homologue inférieur de la proline, et de l'acide pipécolique . Le premier a été isolé de certaines Liliacées (Polygonatum officinalis ou Sceau de Salomon et Convallaria

majalis ou Lis de la Vallée) . Le second a été mis en évidence chez plusieurs légumes et champignons, différentes espèces de Houblon, dans le tubercule de Pomme de terre, la Tulipe, le Céleri, l'Asperge, l'Orge, le lait de Coco et le Haricot (Phaseolus vulgaris) (101) .



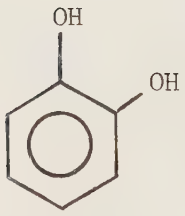
acide azétidine-2-carboxylique



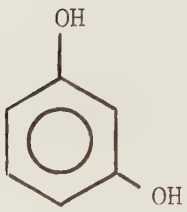
acide pipécolique

d) SUBSTANCES PHENOLIQUES :

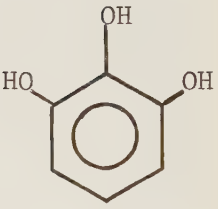
De très nombreux composés phénoliques naturels ou synthétiques s'opposent tout aussi bien à la germination des graines qu'à la croissance en général . Quelques-uns des herbicides tels que les phénols et les crésols substitués le font en raison de leur phytotoxicité générale (93) . D'autres phénols dont la présence chez les plantes est exceptionnelle se révèlent aussi fortement inhibiteurs . C'est le cas du catéchol, du résorcinol et du pyrogallol .



Catéchol



Résorcinol

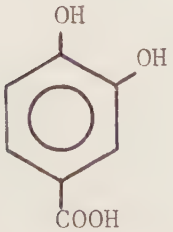


Pyrogallol

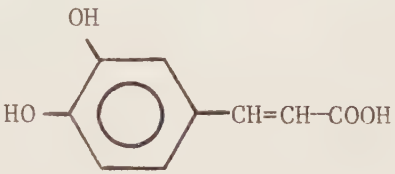
Mais plusieurs autres substances phénoliques beaucoup moins toxiques pour les végétaux et d'ailleurs abondamment réparties chez de nombreuses espèces , sont également douées de propriétés inhibitrices . Ainsi MIKKELSEN et SINAH (97) isolent de l'enveloppe des semences de Riz, Oryza sativa, plusieurs acides phénoliques auxquels ils attribuent un pouvoir inhibiteur . Il en est de même des extraits aqueux des pailles de céréales (Avoine, Orge, Blé et Seigle) qu'étudient KIENTZLER, BONNET et WATRELOS (73) . MORELAND et coll. (101) attribuent leurs propriétés inhibitrices aux très nombreuses substances phénoliques subséquemment isolées . Ainsi en est-il du pouvoir inhibiteur des graines de Conifères rapporté par FROMANTIN (34) . Il est en effet permis de soupçonner ces mêmes substances comme agent causal . De même TORREY et coll. (163) attribuent-ils à un phénol inconnu l'inhibition de la rhizogénèse latérale chez le Pois .

KOVES et VARGA (76) étudiant systématiquement les substances inhibitrices hydro- et éthéro-solubles des fruits de 24 espèces végétales les identifient toutes comme étant des acides phénoliques ou leurs depsides ou polydepsides . A côté de dérivés benzoïques et cinnamiques,

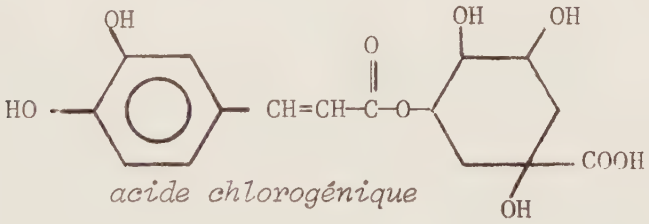
ils notent la présence d'acides tanniques à haut poids moléculaire et les acides protocatéchique, caféique, chlorogénique, férulique, p-coumarique, p-hydroxy-benzoïque, et salicylique . FRAINO DE PANNIER (33) isole les mêmes substances des graines de Phaseolus vulgaris alors que dans leur revue bibliographique, MORELAND et coll. (101) ajoutent à cette liste déjà longue, l'acide vanillique. De leur côté, FLOYD et RICE (30) constatent les effets similaires des acides gallique et gallotannique .



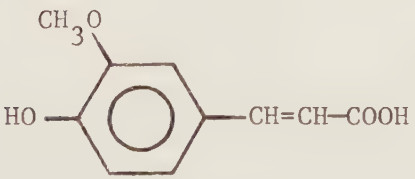
acide protocatéchique



acide caféique

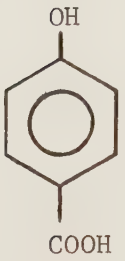


acide chlorogénique

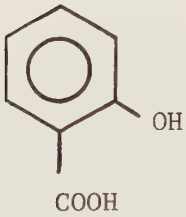


acide férulique

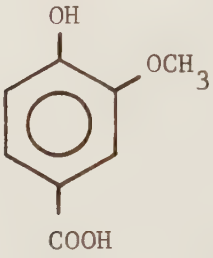
acide p-coumarique



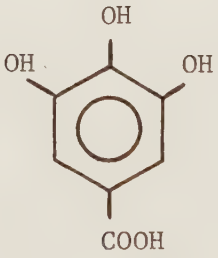
acide p-hydroxy-benzoïque



acide salicylique

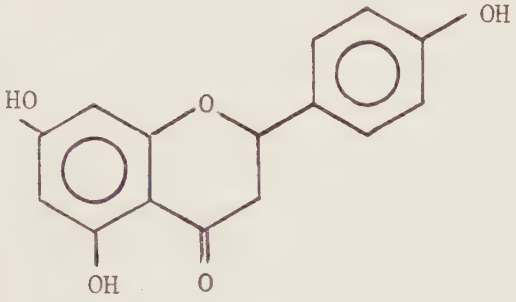


acide vanillique

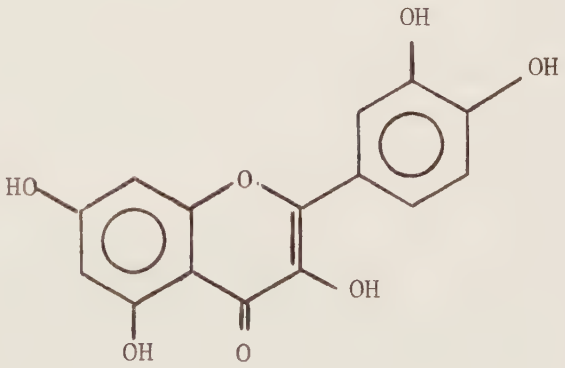


acide gallique

Une autre classe de dérivés phénoliques, les flavonoïdes, possèdent eux aussi des propriétés inhibitrices marquées sur la croissance végétale. C'est le cas de la quercétine (80) et de la naringénine que HENDERSHOTT et WALKER (59) isolent des bourgeons floraux du Pêcher. La naringénine ou 5,7,4'-trihydroxyflavanone représente en fait l'aglycone de la naringine.



naringénine



quercétine

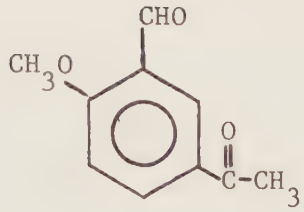
Devant ces constatations expérimentales, faudrait-il s'étonner de ce que d'autres polyphénols manifestent éventuellement les mêmes propriétés ?

Complexe Inhibiteur β :

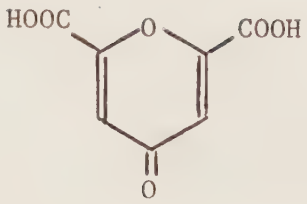
C'est BENNET-CLARK et KEFFORD qui en 1953 introduisent la notion d'inhibiteur β . Le terme désigne une zone bien définie située au-dessus de l'acide indole-acétique sur les chromatogrammes d'extraits végétaux développés dans le mélange isopropanol/ammoniaque/eau. LEOPOLD (80) demeure sceptique en ce qui concerne l'identité de l'inhibiteur β mais ALLARY (1) n'hésite pas à affirmer qu'il est en grande partie constitué d'acides phénoliques . Selon cet auteur ces substances seraient en rapport avec la dormance des bourgeons des végétaux ligneux . A la lumière des données recueillies au cours de différents travaux effectués par plusieurs chercheurs, MORELAND et coll. (101) , abondent en ce sens et considèrent comme faisant partie du complexe inhibiteur β , outre la coumarine, les acides o- et p-coumariques, férulique, salicylique, m-hydroxy-benzoïque, cinnamique, la scopolétine et la naringénine, à côté de quelques autres constituants non phénoliques .

e) AUTRES INHIBITEURS :

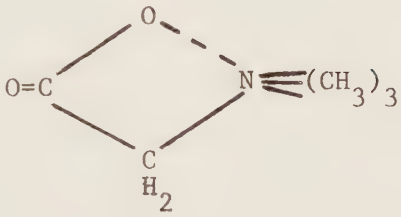
Il serait sans doute facile d'allonger une nomenclature déjà fort riche et que le temps se chargera de compléter . Dans un souci relatif d' universalité nous nous contenterons de souligner qu'il existe un certain nombre d'inhibiteurs ne se rattachant pas aux catégories précédentes . Parmi ceux-ci on retrouve la 3-acétyl-6-méthoxybenzaldéhyde isolée des feuilles d'un arbuste du désert , Encelia farinosa , l'acide chélidonique qui existe chez plusieurs végétaux à l'état libre, de même qu' un ammonium quaternaire, la bétaïne , extraite de la Betterave .



3-acétyl-6-méthoxybenzaldéhyde



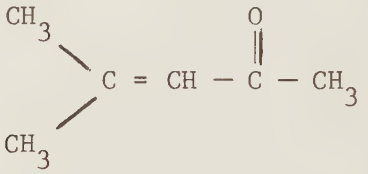
acide chélidonique



bétaïne

Ajoutons à cela un inhibiteur de nature indolique isolé de la Centaurée (Composées) par FLETCHER et RENNEY (29) auquel il faut apparenter, vu leur comportement, des métabolites de l'acide indole-acétique (164). Les auteurs rendent cette substance responsable de l'implantation exclusive de ce végétal dans plusieurs sols et vont même jusqu'à se demander s'il ne s'agit pas d'un précurseur auxinique. Aussi est-il intéressant de noter qu'à la suite des constatations d' EVENARI et MAYER, KHAN et TOLBERT (72) remarquent l'inhibition de la germination des graines de Laitue ou de l'élongation des racines par l'acide indole-acétique ($5,7 \times 10^{-6}$M). Nous reviendrons d'ailleurs sur le sujet quand nous nous intéresserons au rôle joué par l'acide indole-acétique en physiologie végétale.

D'autre part, LERNER et EVENARI (82) identifient un inhibiteur hydrosoluble dans les feuilles d' Eucalyptus rostrata . Il s'agirait de l'oxyde de mésityle auquel ils ne parviennent toutefois pas à attribuer de fonction écologique certaine .



oxyde de mésityle

Enfin l'action de la colchicine (Colchicum autumnale) (135) et de la podophylline (Podophyllum peltatum) (39) qui manifestent une très nette inhibition semble n'être en fait qu'une conséquence logique des aberrations chromosomiques dont elles sont la cause dans ce cas comme dans d'autres . C'est pourquoi on ne les rattachera qu'indirectement au groupe des inhibiteurs de la germination et de la croissance végétale, tout au moins dans le sens de "régulateurs", leurs effets physiologiques relevant davantage de la pathologie .

C) ROLE DES INHIBITEURS CHEZ LE VEGETAL :

Selon qu'ils sont "homologues" ou "hétérologues" (39), les inhibiteurs de croissance exerceront leurs effets sur le végétal qui les élabore ou tout au moins à l'intérieur de leur propre espèce, ou au contraire, ce sont les espèces voisines qui en seront l'objet.

Cette distinction détermine en quelque sorte les fonctions que ces substances naturelles sont appelées à remplir. L'action des inhibiteurs homologues s'inscrit dans l'ensemble des mesures qui aident à la perpétuation des espèces en empêchant une croissance démesurée des plantes dans un sol inadéquat, ce qui aurait pour résultat la mort subséquente du groupe végétal. Dans cet ordre d'idées, on estime de plus en plus logique de relier les inhibiteurs au phénomène de "dormance" rencontré à la fois chez les graines, les bourgeons et les tubercules (114). OCHESANU et BARBAT (111) vont même jusqu'à émettre l'opinion que l'anthèse (induction de la floraison) est sous le contrôle d'interactions entre inhibiteurs et stimulateurs.

En ce qui a trait aux inhibiteurs hétérologues, ils semblent davantage impliqués dans les phénomènes écologiques mettant en cause la lutte entre les espèces, illustrée sans équivoque par les plantes exclusives.

Notons toutefois que les distinctions posées n'excluent pas la possibilité pour une même substance de manifester une action inhibitrice à la fois sous les deux aspects.

1) Dormance :

a) Dormance des Bourgeons :

Lorsque les bourgeons ont atteint la maturité, leur croissance s'arrête habituellement . C'est ce qu'on appelle la "dormance" (117) .

Après plusieurs tentatives d'explication du phénomène, l'unanimité ne semble pas encore en voie de se réaliser . Sans que soit nié le rôle éventuel mais encore obscur des auxines en qui on voyait jadis les seuls responsables, plusieurs auteurs n'hésitent pas à placer la dormance des bourgeons sous la dépendance au moins partielle des inhibiteurs de croissance . Ils retrouvent en effet ceux-ci en abondance pendant toute sa durée . En outre un abaissement de leur concentration coïncide avec la levée de la dormance . C'est ainsi qu' ALLARY (1) affirme sans ambages que la dormance des bourgeons des végétaux ligneux est liée à la présence du complexe inhibiteur β de Bennet-Clark . Selon PHILLIPS (114) , la naringénine dont nous avons déjà mentionné les propriétés inhibitrices n'est pas étrangère au phénomène chez certaines espèces (Pêcher), quoique ce dernier auteur fasse également intervenir les gibbérellines . Il s'agirait en somme de subtiles interactions entre auxines, gibbérellines et inhibiteurs dont les modalités échappent encore à la science . Cependant SMITH et KEFFORD (151) estiment improbable l'intervention d'inhibiteurs et préfèrent s' en tenir aux interactions des seules auxines, gibbérellines et kinines .

Il n'existe pas de preuve irréfutable d'une participation active des inhibiteurs de croissance au phénomène de dormance des bourgeons . Toutefois les hypothèses émises en ce sens conservent une vraisemblance certaine.

Il faut en pareil cas se garder de rechercher une explication absolue ou restrictive mais plutôt envisager le problème dans l'esprit des nombreuses interdépendances dont le monde végétal comme tout l'univers biologique sont le siège . Les inhibiteurs phénoliques ne peuvent peut-être pas à eux seuls expliquer le phénomène mais il n'est pas du tout certain qu'ils en soient exclus .

b) Dominance Apicale :

Dès 1925 on avait noté le comportement très différent du bourgeon terminal ou apical et des bourgeons latéraux ou axillaires . Selon PILET (117), c'est SNOW qui a démontré que le bourgeon terminal était responsable de l'inhibition, c'est-à-dire de la dormance des bourgeons latéraux chez Vicia faba et Phaseolus multiflorus .

Les différentes recherches entreprises ensuite ont amené certains auteurs à relier directement les auxines au phénomène . D'autres y ont vu un effet exclusif des inhibiteurs .

Ici encore la prudence est de règle car on semble bien loin d'une solution définitive . Nous nous bornerons à dire que les travaux actuels paraissent se diriger dans le sens d'une nouvelle interaction auxines-inhibiteurs.

La chose n'étonne qu'à moitié quand on songe que les inhibiteurs et en particulier ceux de nature phénolique, modifient bien souvent le métabolisme des phytohormones.

c) Dormance des Graines :

Etant donné que les graines constituent un matériel commode à étudier, les recherches concernant leur dormance ont pu progresser beaucoup plus rapidement (80) .

A des considérations morphologiques mettant en cause la structure même de la graine s'ajoutent aujourd'hui des explications faisant intervenir les substances de croissance . Un certain nombre de facteurs externes tels que les conditions d'humidité, la photo-période et la température (80) (93) , jouent également leur rôle dans la régulation du phénomène .

Or, il semble en effet logique de concevoir la dormance comme le résultat de composantes structurales telles que l'imperméabilité de l'enveloppe de la graine à l'oxygène ou à l'eau (99) ou encore une dureté particulière de celle-ci (5) (99) . Plusieurs chercheurs ont du reste obtenu des résultats permettant de le penser .

En revanche , l'intervention des substances de croissance dans le phénomène est généralement admise, ce qui englobe à la fois stimulateurs et inhibiteurs . Mais alors qu'on reconnaît aux auxines de très importantes fonctions chez presque tous les phénomènes de croissance, en particulier des tissus embryonnaires, on ne peut toutefois pas encore les rattacher de façon certaine à la dormance (80) .

Par ailleurs on retrouve des inhibiteurs de croissance chez la plupart des semences dormantes de même que dans plusieurs fruits engagés dans les processus de maturation . Plusieurs faits, tels que la dormance provoquée par leur application militent en faveur de la participation de ces substances dans les mécanismes physiologiques de la dormance . C'est ainsi que PHILLIPS (114) a pu montrer que la naringénine impose la dormance aux graines de Laitue . L'auteur note toutefois que le phénomène est inversé par la lumière et l'acide gibbérellique .

De leur côté, MIYAMOTO et coll. (99) n'hésitent pas à rendre responsables de la dormance des graines de Blé,la cathéchine et les tanins catéchiques,précurseurs

des pigments de l'enveloppe de la graine . Les auteurs assortissent d'ailleurs leur hypothèse de données expérimentales qui rapportent une dormance beaucoup plus nette et plus profonde chez les grains de Blé "rouge" plus riches en pigments que chez le Blé "blanc" .

Etudiant la dormance des graines de Psoralea subacaulis, BASKIN et coll. (5) l'attribuent aussi bien à l'enveloppe particulièrement rigide de la semence qu'à la présence d'inhibiteurs de nature furano-coumarinique. Quant à NORD et VAN ATTA (109), ils prêtent à la saponine, substance dont nous avons déjà noté les propriétés inhibitrices, un rôle analogue . De son côté, MONIN (100) étudiant un inhibiteur isolé des embryons dormants d' Evonymus europaeus, l'identifie à l'acide trans-p-coumarique et considère cette substance comme un des agents qui déterminent la dormance embryonnaire chez cette espèce, en empêchant l'action des gibbérellines .

En général donc, la dormance des graines semble être une conséquence des caractéristiques structurales de l'enveloppe (ou des diverses membranes) ou le résultat des interactions entre substances stimulatrices et inhibitrices . Dans plusieurs cas, le système des régulateurs de croissance se concentre dans les couches les plus extérieures de la graine (en particulier l'enveloppe) et ainsi ces deux types de mécanismes physiologiques sont bien souvent étroitement reliés .

L'oxygène, quant à lui, présente sur la germination un effet positif . On s'est même rendu compte que l'exposition des graines à de fortes concentrations du gaz entraînait la levée de la dormance et la diminution des inhibiteurs en présence . La lumière peut avoir exactement les mêmes effets . C'est ce qui a amené PAECH à suggérer que la dormance était régulée par les substances phénoliques de l'enveloppe de la graine . En effet ,

les processus d'oxydation phénolique pourraient mobiliser l'oxygène et l'empêcher ainsi d'entrer dans la graine. L'action des substances phénoliques pourrait être bloquée par l'oxygène et la lumière , susceptible de provoquer leur photooxydation. Il faut reconnaître à cette hypothèse le mérite de relier en un seul système les actions respectives de l'oxygène, de la lumière et des inhibiteurs (80).

Malgré les réserves de SIKDER (150), il paraît normal d'associer les inhibiteurs de la germination au phénomène de dormance des graines. La levée de cette dormance résulterait tout aussi bien de la disparition de ces substances que des actions stimulantes des gibbérellines et des kinines.

Ajoutons que parmi les autres fonctions possibles des inhibiteurs homologues, RICE (142) à l'instar d'EVENARI (27) va même jusqu'à prétendre que la survie de plusieurs espèces de plantes désertiques est sous leur dépendance. Leurs graines nécessitent des pluies abondantes qui lessivent les inhibiteurs afin de permettre la germination. Ce même auteur attribue en outre aux acides phénoliques et aux produits analogues dont nous avons parlé une importance évidente en rapport avec la résistance de plusieurs plantes aux infections fongiques, bactériennes et virales. Ainsi en est-il d'un inhibiteur de nature tanoïde contenu dans les feuilles de Framboisier.

2) Ecologie :

Les Plantes Exclusives .

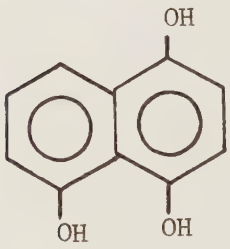
Point de départ de nos recherches, la réalité des plantes exclusives ne manque pas d'intérêt . L'explication voulant que le phénomène résulte d'une plus grande faculté d'adaptation à un habitat particulier ne résiste plus à la critique depuis qu'on s'est bel et bien rendu compte que des habitats similaires pouvaient être le siège d' "exclusivisme" de la part d'autres espèces ou même d'un mélange de plantes (39) .

Tout semble plutôt plaider en faveur de la sécrétion, par certaines plantes, d'un inhibiteur à large spectre, inhibiteur entièrement hétérologue (50) (78) . Ainsi, de dire GARB (39), lorsque la densité de ces plantes dans une aire définie atteint un point critique, elles empêchent toutes les autres plantes d'y élire domicile .

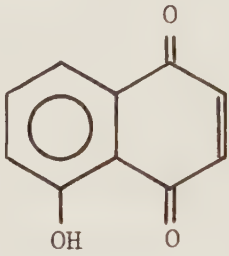
BASKIN et coll. (5) se rallient entièrement à ce point de vue . MAYER et POLJAKOFF-MAYBER (93) attribuent du reste aux couches de feuilles qui recouvrent le sol de semblables propriétés . C'est ainsi qu'en Israël, YARDENI et EVENARI se sont rendus compte de la pauvreté de la végétation dans le voisinage des Eucalyptus . Des inhibiteurs de la germination furent aussitôt mis en évidence dans les feuilles de l'arbre . Le sol prélevé au même endroit ne possède toutefois pas de propriété inhibitrice . Il faut donc supposer que l'inhibiteur hydrosoluble est rapidement lessivé ou encore détruit par les microorganismes, comme la chose se produit souvent (140) .

Sous un aspect anodin, ce phénomène peut toutefois dissimuler des répercussions économiques désastreuses . Des effets dramatiques qu'il faut relier aux inhibiteurs de croissance se manifestent parfois en agriculture.

Ainsi s'est-on rendu compte en Virginie de l'inconvénient de la présence de Noyers à proximité des vergers de Pommiers .GRUMMER (56) explique la chose par la présence dans les feuilles de Juglans (Noyer) d'un inhibiteur, l'hydrojuglone et de son produit d'oxydation la juglone .



hydrojuglone



juglone

Les interactions qui se manifestent entre différentes herbes d'un mélange pour pelouse s'expliquent sans doute, elles aussi, par l'action d'inhibiteurs différentiels .

Terminons quand même sur une note optimiste en ajoutant que cette propriété peut cependant être mise à profit au point de vue économique . En effet, au cours du développement de nouvelles souches de plantes utiles, l'étude de la résistance de celles-ci aux inhibiteurs de croissance peut éventuellement révéler des caractéristiques génétiques favorables (39) .

D) MECANISME D'ACTION DES INHIBITEURS NATURELS :

Tous les produits doués de toxicité à l'égard des cellules vivantes inhibent la germination et la croissance à dose toxique, en tuant en quelque sorte les graines ou autres organes soumis à leur action . A cela il n'y a rien d'étonnant .

Beaucoup plus intéressante est l'action des substances qui s'opposent à la germination sans que la vitalité des semences soit irrévocablement compromise . C'est le cas par exemple des inhibiteurs osmotiques (93) qui, tels les sucres ou les sels inorganiques comme le chlorure de sodium, empêchent les graines de germer en leur imposant un milieu à haute pression osmotique . Ces substances s'opposent en fait à la première phase de la germination que représente l'imbibition de la graine (27) . On retrouve le phénomène dans plusieurs fruits et à l'occasion chez les graines de plantes d'habitats salins . Retirées de ces conditions et soumises à l'humidité, les semences germent .

S'intéressant aux propriétés inhibitrices de la streptomycine, ROSEN (145) les attribue à la complexation par l'antibiotique de métaux divalents . Le Mn^{++} et le Ca^{++} font, en effet, cesser le phénomène .

Une meilleure compréhension du mécanisme par lequel la croissance est contrôlée par les inhibiteurs naturels procurerait une assistance efficace dans le développement de nouveaux herbicides et régulateurs de croissance . Malheureusement on sait encore bien peu de choses au sujet des interférences spécifiques que les inhibiteurs naturels déterminent au niveau moléculaire .

De fortes concentrations d'inhibiteur peuvent se retrouver dans un organisme sans causer de dommage apparent à ce dernier . La colchicine et la podophylline qui peuvent entraîner chez d'autres espèces la polyploidie en modifiant le mécanisme de la division cellulaire , paraissent inactives chez les végétaux producteurs qui en renferment quand même des quantités appréciables (101) .

On rapporte la production en quantités importantes de l'amino-acide non protéinique dit acide azétidine-2-carboxylique par certaines Liliacées . Aucune preuve de son incorporation aux protéines de ces plantes n'a été faite . Cependant ses propriétés inhibitrices sont bien connues sur d'autres espèces et on les attribue à la formation de protéines excentriques où il s'est substitué à la proline, son homologue supérieur .

De façon générale, des perturbations métaboliques sont à l'origine des phénomènes d'inhibition (66) . La germination et la croissance ne se séparant pas des aspects actifs du métabolisme, il devient évident que les composés qui en gênent certaines voies manifesteront des propriétés inhibitrices (93) . C'est le cas de substances telles que les cyanures (amygdaline) et le dinitrophénol qui empêchent la respiration, et de la plupart des inhibiteurs qui semblent interférer avec quelque processus métabolique .

1) Coumarine :

Les effets inhibiteurs de la coumarine, connus depuis fort longtemps, furent l'objet de plusieurs tentatives d'explication .

Certains auteurs les attribuent à son action sur les groupements sulfhydryles des enzymes. A l'appui de cette hypothèse on a constaté qu'un prétraitement des tissus

par le BAL (2, 3-dimercapto-propanol) lève l'inhibition (15) (101). D'autres y voient plutôt la résultante de son action antimitotique.

Pour sa part, BERNHARD (15) rapporte que la coumarine interfère avec le métabolisme des hydrates de carbone, des lipides ou des protides. Elle serait en effet un puissant inhibiteur de la lipase et même des protéases dans les toutes premières phases de la germination. DUMITRU, VERBEEK et MASSART (26) en font plutôt une question de blocage de la formation de l' α-amylase, ce qui leur fait considérer la coumarine comme une antigibbérelline.

Pour MAYER (92), les propriétés inhibitrices de la coumarine ne se rattachent pas à une action directe sur un système enzymatique spécifique. Selon cet auteur, elles seraient plutôt reliées indirectement à son effet sur la libération de phosphore inorganique à partir de la phytine et aussi au métabolisme de l'ATP. La coumarine contrôlerait de cette manière la respiration ou tout au moins l'apport d'énergie aux graines, en interférant avec des étapes de l'oxydation des substrats.

2) Inhibiteurs PHENOLIQUES :

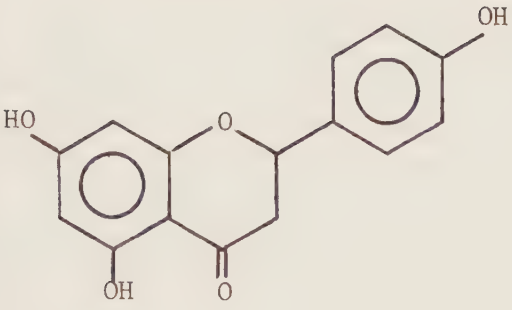
Etant donné que les études portant sur les inhibiteurs de croissance ont été menées par des physiologistes intéressés spécifiquement à la régulation auxinique de celle-ci, il est devenu difficile de dissocier les concepts d'inhibition de croissance et d'antagonisme auxinique. Cependant, et nous l'avons noté, plusieurs inhibiteurs semblent se comporter davantage comme des antigibbérellines. Et on se rend compte aujourd'hui qu'ils peuvent aussi interférer avec les kinines, comme ce semble être le cas de certains flavonoïdes.

Plusieurs auteurs ont néanmoins proposé d'autres mécanismes d'action pour expliquer les effets inhibiteurs des substances phénoliques . Pour DESPOIS (25) il est vraisemblable de supposer l'intervention des acides phénoliques dans les processus d'oxydoréduction qui intéressent le métabolisme des plantes normales . Une action des o-polyphénoloxydases sur les processus de respiration est tenue pour certaine .

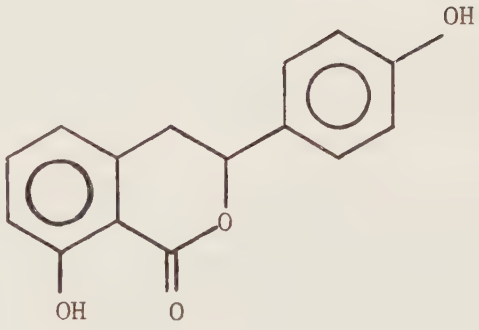
De leur côté, FLOYD et RICE (30) se demandent s'il ne convient pas de relier leurs propriétés inhibitrices sur les plantes supérieures au fait que les tanins galliques sont d'excellents agents de précipitation des protéines . On sait d'autre part que le leucocyanidol se montre capable de précipiter les protéines sanguines in vitro (159) .

PILET (118) affirme que l'inhibiteur β , connu pour ses composantes phénoliques, agit sur les α-amylases, les échanges respiratoires en contrôlant l'entrée des phosphates, et peut-être le catabolisme auxinique . A ce sujet ALLARY (1) s'en tient au concept de MARINOS et HEMBERG voulant que les acides phénoliques du complexe inhibiteur β agissent en supprimant des phosphorylations génératrices de liaisons riches en énergie .

La configuration spatiale semble jouer un rôle important dans le phénomène d'inhibition . Il faut aussi semble-t-il y relier la position des substituants hydroxylés . Du moins est-ce l'avis de PHILLIPS (114) qui, notant les analogies entre naringénine et hydrangénol, n'en constate pas moins des effets contraires qu'il relie aux positions différentielles des substituants .



Naringénine



Hydrangénol

L'auteur suggère d'autre part que les effets inhibiteurs de la naringénine tiennent à ses propriétés antioxydantes, communes semble-t-il à plusieurs flavonoïdes . Dans le cas précis de la naringénine, il a été constaté que le produit se comporte comme un antioxydant vis-à-vis des graisses et il paraît convenable selon l'auteur, d'estimer que son action inhibitrice sur la croissance soit en rapport étroit avec ses effets s'opposant aux processus d'oxydation . En cela il ne s'éloigne pas sensiblement des conceptions énoncées plus haut .

Malgré tout,de très nombreux auteurs voient la solution du côté des auxines et de leur catabolisme .

Les mécanismes d'action impliquant les systèmes auxiniques comportent en réalité trois aspects distincts :

1) action sur les auxines elles-mêmes
2) action sur les auxines-oxydases ou d'une façon plus générale sur le catabolisme auxinique
3) action de synergie .

Nous réserverons toutefois au second chapitre l'étude de la potentialisation ou, si l'on préfère, la question des "inhibiteurs synergiques" .

Ainsi donc, un mécanisme souvent invoqué pour expliquer les effets inhibiteurs des différentes substances phénoliques sur la croissance des plantes implique une activation de l'oxydase de l'acide indole-acétique (AIA-O) . La décarboxylation oxydative de l'acide indole-acétique (AIA) par l'enzyme isolé du Pois nécessite le concours d'un cofacteur phénolique oxydant la composante métallique représentée par le manganèse . A la suite de GOLDACRE , GALSTON et WEINTRAUB (51) qui s'aperçoivent que différents phénols substitués (2,4-D et DCP) activent l' AIA-O, d'autres auteurs attribuent également des effets activateurs aux acides férulique et p-coumarique des feuilles d' Ananas . Ces constatations expérimentales ne tardent pas à amener MUMFORD à la conclusion que la présence de telles substances doit probablement se traduire par une diminution de croissance consécutive à une chute du taux auxinique . Dans cette optique, on peut penser que l'addition de ces inhibiteurs va permettre la croissance dans les cas où celle-ci est bloquée par une concentration supra-optimale d'auxine . Or il n'en est rien (80) .

Les inhibiteurs peuvent aussi s'ajouter à la molécule d'auxine elle-même, comme le suggère TOMASZEWSKI, ou encore manifester une compétition au site de l'action auxinique ; VAN OVERBEEK croit que c'est le cas de l'acide trans-cinnamique, quoique SHIBAOKA (148) estime que cette action compétitive ne constitue qu'une composante d'un mécanisme plus complexe .

Tout en gardant un haut degré de vraisemblance, ces explications n'ont pas encore fait l'objet de preuves irréfutables . Leur intérêt n'en demeure pas moins indiscutable, surtout depuis qu'on a pu mettre en évidence des propriétés potentialisatrices de la croissance chez plusieurs inhibiteurs naturels, à faible concentration .

N'y aurait-il pas moyen de trouver une base d'explication commune à ces deux phénomènes, inhibition et synergie ? On sait d'ailleurs que les concentrations d'auxine optimales varient selon les organes, les racines étant beaucoup plus sensibles que les tiges .

L'hormone exerce son action optimale à 10^{-10}M pour les racines, 10^{-8}M pour les bourgeons et 10^{-5}M pour les tiges. De fortes concentrations d'auxine s'opposent du reste à la germination. L'action inhibitrice des substances phénoliques ne résulterait-elle pas en somme d'un blocage de l'AIA-0, se traduisant ainsi par une concentration supra-optimale d'auxine ?

CHAPITRE II

INHIBITEURS SYNERGIQUES

°°°

Plusieurs inhibiteurs naturels manifestent paradoxalement des propriétés de synergie : ils potentialisent à basse concentration la croissance induite par l'auxine, tout en se montrant inhibiteurs à concentration plus forte. Ces effets sont communs en particulier à plusieurs phénols et flavonoïdes .

On peut penser que cette synergie résulte de la compétition entre l'auxine et le produit pour des sites inactifs, ce qui se traduirait par une efficacité plus grande de l'auxine à de faibles concentrations d'inhibiteur .

Cependant la majorité des auteurs estiment aujourd'hui que l'explication du phénomène passe par le catabolisme auxinique, que ces substances semblent modifier (80) .

Afin de bien poser la question, il nous a paru utile de rappeler quelques notions ayant trait aux auxines et d'élargir cette brève étude à l'ensemble des phytohormones, tout au moins de façon sommaire .

Une fois posées ces quelques généralités, nous nous attaquerons au catabolisme auxinique, conscient toutefois des limites que comporte une telle étude dans l'état des connaissances actuelles .

Il nous sera ensuite possible d'envisager le phénomène lui-même, c'est-à-dire la potentialisation de croissance (induite) et de confronter les différentes hypothèses de mécanisme .

*

A) LES PHYTOHORMONES :

Procédant en quelque sorte à rebours, notre étude des régulateurs de croissance s'est jusqu'ici identifiée presqu'exclusivement aux inhibiteurs . Il faut toutefois bien se garder de croire que seuls ces derniers méritent l'appellation de "régulateurs" . Le terme réfère d'abord et avant tout aux substances hormonales qui contrôlent la croissance de façon active, les phytohormones .

Aux auxines qui furent les premières découvertes se sont ajoutées par la suite les gibbérellines et les kinines . Bien qu'à chaque catégorie soient assignées des fonctions spécifiques, il ne semble pas possible d'en dissocier entièrement les actions respectives . Ces interactions s'enrichissent également des effets propres aux inhibiteurs qui en modifient le jeu pour atteindre ainsi l'équilibre que manifeste l'univers végétal .

1) AUXINES :

a) Découverte :

La découverte des auxines fut l'aboutissement de recherches effectuées dans le but d'expliquer un effet de corrélation : le phototropisme (80) .

Dès 1881 , DARWIN observe que le coléoptile de Phalaris canariensis dont la pointe est enlevée ou coiffée de papier noir ne se courbe plus vers la lumière . Au début du siècle, BOYSEN - JENSEN étudiant le phototropisme à l'aide de coléoptiles d' Avoine, confirme les

travaux de DARWIN selon lesquels lorsqu'on supprime la pointe, les coléoptiles ne se dirigent plus vers la lumière . Cependant ils s'incurvent à nouveau en-dessous de la section si on a soin de remettre la pointe en place par l'intermédiaire d'une lame de gélose . De 1914 à 1919 , PAAL s'ingénie à démontrer que le phototropisme est attribuable à une substance localisée à la pointe du coléoptile, mais ayant aussi une fonction en rapport avec la croissance normale (9) .

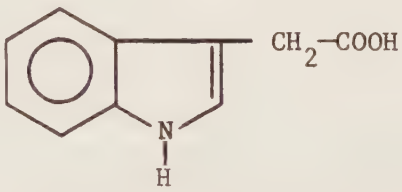
C'est toutefois à WENT que revient le mérite d'avoir prouvé en 1926 l'existence de cette hormone diffusible dans l'agar, responsable de l'élongation cellulaire, l'auxine . Ainsi fut perçue la corrélation qui existe entre le phototropisme et le contrôle endogène de la croissance. La découverte fut une révélation pour la physiologie végétale . Elle remettait en question le vieux concept traditionnel selon lequel les hormones étaient exclusives au règne animal .

b) Nature Chimique et Extraction :

En 1934, KOGL décrivait l'acide indole-acétique comme une auxine après l'avoir isolé de différents végétaux et même de l'urine humaine . Les études subséquentes des auxines furent longtemps dominées par cette substance, vu son rapport avec le contrôle de la croissance . Le terme " hormone de croissance" devint du reste synonyme d'auxine et les études sur le mécanisme d'action des auxines furent davantage orientées vers les modalités de l'élargissement cellulaire . Si leurs propriétés stimulantes sur la croissance intéressent à n'en pas douter les tiges et les coléoptiles, racines, feuilles et fruits y réagissent peut-être différemment tout au moins pour des concentrations équivalentes . On a cependant noté que l'auxine était capable de hâter l'enracinement des boutures .

Alors que les tiges sont stimulées de façon très proportionnelle à la concentration en auxine, les organes étiolés y étant du reste plus sensibles, il n'est pas exceptionnel de constater une action inhibitrice chez les racines .

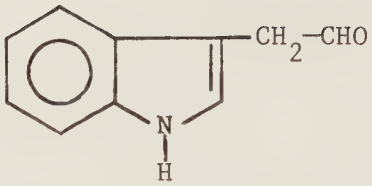
Jadis considéré comme "hétéro-auxine" à côté des premières auxines "a" et "b" jamais plus retrouvées, l'acide indole-acétique constitue à n'en pas douter le chef de file de ces substances ou si l'on préfère , l'auxine-type .



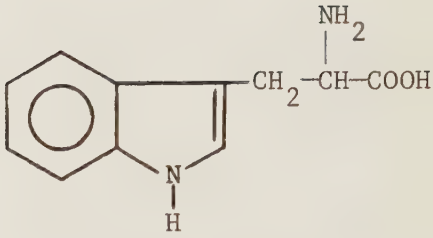
acide indole-acétique

Il fut par la suite possible de mettre en évidence chez les plantes plusieurs autres substances douées de propriétés stimulantes sur la croissance . La majorité sont de nature indolique .

L'indoleacétaldéhyde est active comme stimulateur de croissance en raison de sa conversion spontanée en acide indole-acétique (acide β - indolyl-acétique). C'est le précurseur immédiat de l' AIA dont la biosynthèse se fait à partir du tryptophanne .

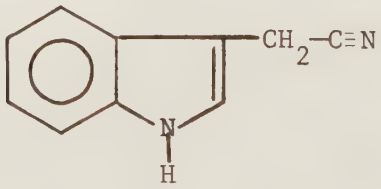


indoleacétaldéhyde



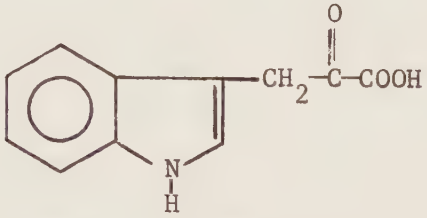
tryptophanne

L'indoleacétonitrile , isolé de très nombreuses espèces végétales, en particulier chez les Crucifères, est également actif dans la mesure où il peut être transformé en AIA .

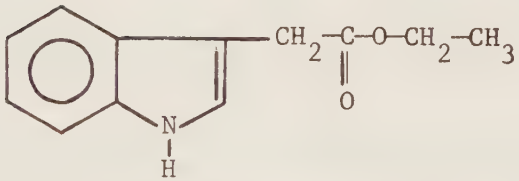


indoleacétonitrile

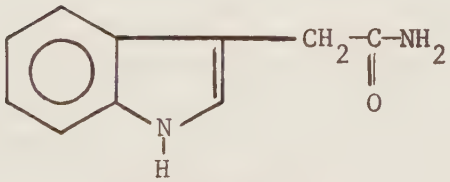
Mentionnons encore l'acide indole-pyruvique, l'indoleacétate d'éthyle et l'indoleacétamide (64). L'unanimité à savoir si ces substances constituent des artéfacts d'extraction ou existent per se dans les plantes reste encore à établir, quoique plusieurs chercheurs affirment que les végétaux les renferment sous ces formes.



acide indole-pyruvique



indoleacétate d'éthyle



indoleacétamide

Au surplus convient-il d'ajouter que les auxines en plus d'être mobiles ou non n'existent pas forcément à l'état libre chez les plantes . Ainsi ISHII (63) met-il en évidence dans l'épicotyle de Pois une auxine sous forme liée, libérant l' AIA après hydrolyse alcaline . LABARCA (77) pousse plus loin les recherches et identifie dans les grains de Maïs plusieurs formes liées d' AIA dont un conjugué avec l'inositol . Il semblerait qu'on retrouve dans le grain de Maïs des quantités 100.000 fois plus importantes d'auxine que dans le coléoptile d'Avoine, environ 10 microgrammes par grain .

L'importance physiologique de cette découverte est évidente si l'on songe que l'inositol, connu comme facteur de croissance, participe probablement au métabolisme de la cloison cellulaire . Pour GORTER (53) il existe des complexes de l'AIA intéressant également le glucose (glucosides), ce qui correspond à des mécanismes de détoxication (172) , l'acide aspartique, les orthophénols tels que l'acide chlorogénique et plusieurs autres composés .

L'action de l'auxine souffre toutefois des liens que cette dernière contracte . C'est ainsi que l'auxine liée à une protéine dans les coléoptiles d' Avena ne stimule pas la croissance (170) . En revanche, ZENK (172) note que certains complexes AIA-protéines constituent des artéfacts d'extraction .

Il faut d'autre part mentionner que l'on retrouve l'AIA dans différents champignons pathogènes et non pathogènes (83) . On peut du reste penser que la pathologie de ces agents est reliée à leur pouvoir élevé de synthétiser l'AIA .

c) Produits de Synthèse :

A mesure que les recherches sur les phytohormones aboutissent à l'identification chimique de ces substances, de nombreux chercheurs entreprennent la synthèse de substances nouvelles douées de propriétés analogues .

Dès 1938 sont précisées les relations entre la structure chimique et l'activité auxinique . Selon KOEPFLI et WENT (rapporté par GORTER (53) -), cette dernière nécessite :

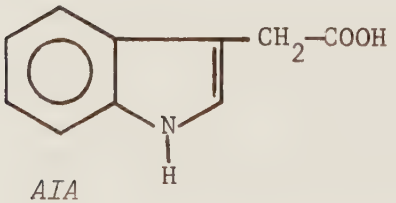
1) une composante cyclique comme noyau de base (" a ring system as a nucleus ")
2) une double liaison à l'intérieur du cycle
3) une chaîne latérale pourvue d'un groupement carboxylique (ou d'un groupe pouvant être converti en carboxyle)
4) au moins un atome de carbone entre la partie cyclique et le carboxyle
5) une relation spatiale particulière entre le cycle et le carboxyle .

Ces règles demeurent plus ou moins valides aujourd'hui quoique seuls des changements mineurs y aient été apportés . Il semblerait possible de substituer un groupe - SOOH au - COOH . Quant au pont carbone entre le carboxyle et le cycle, il n'est pas vraiment essentiel . La configuration spatiale, quoique importante , n'a pas été élucidée .

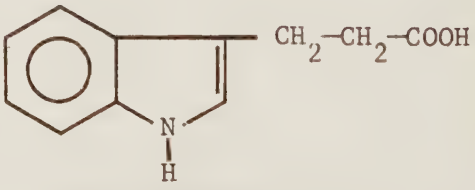
Quoi qu'il en soit, plus les recherches progressent, plus il semble utopique de vouloir établir des règles d'activité . La configuration de la molécule est sûrement importante, mais la raison en demeure obscure .

Parmi les principales substances synthétisées jusqu'à présent, on remarque à côté des composés indoliques, des acides naphthaléniques, phénoxyacétiques et benzoïques . Les composés indoliques (acide indoleacétique de synthèse, acide indolepropionique et acide indolebutyrique) et les acides naphthaléniques (acide naphthalène-acétique, acide β - naphthoxy-acétique) sont utilisés principalement pour favoriser la rhizogénèse (bouturage), les acides phénoxyacétiques (acide 4-chloro-, acide 2,4-dichloro- et acide 2,4,5 - trichloro - phénoxyacétique) comme herbicides et modificateurs de la croissance et de la maturation des fruits, et les acides benzoïques (2,4,6-trichloro- et 2,3,6 - trichlorobenzoïques) comme herbicides .

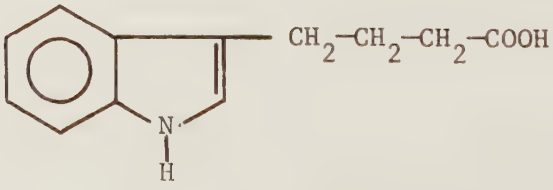
- Composés Indoliques :



AIA

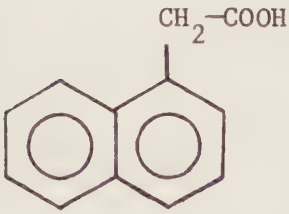


acide indolepropionique

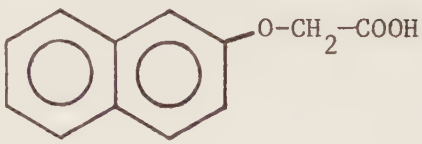


acide indolebutyrique

- Acides Naphthalène-acétiques :

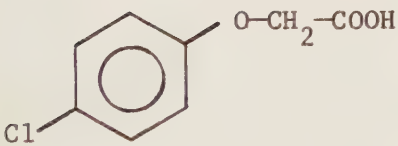


acide naphtalèneacétique (ANA)

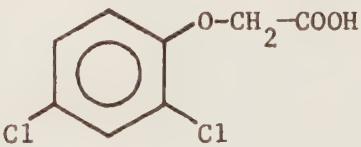


acide ß-naphtoxyacétique

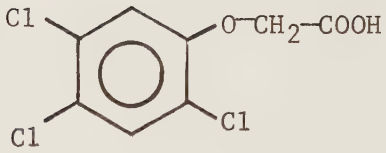
- Acides Phénoxyacétiques :



acide 4-chloro-phénoxyacétique

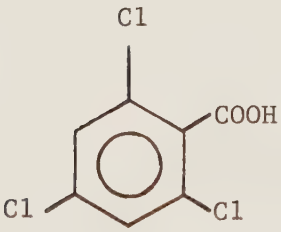


acide 2,4-dichloro-phénoxy-acétique ou "2,4-D"

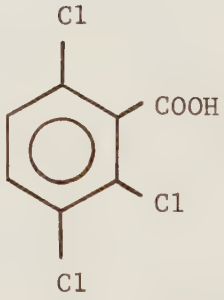


Acide
2,4,5-trichlorophénoxyacétique

- Acides Benzoïques :



Acide
2,4,6-trichlorobenzoïque



Acide
2,3,6-trichlorobenzoïque

d) Rôle et Effets des Auxines :

Déjà plusieurs ouvrages ont fait état des fonctions assignées aux auxines . Il n'est pas exagéré de dire que ces substances sont omniprésentes et qu'elles sont reliées directement ou indirectement à de multiples phénomènes intéressant à peu près tous les organes végétaux . Dans une perspective beaucoup plus sobre, nous nous limiterons à en rappeler les principales fonctions .

α Croissance :

Pour favoriser l'étirement cellulaire, l'auxine (AIA) agit sur la pénétration de l'eau dans les tissus, la pression osmotique des cellules, les propriétés d'extensibilité des membranes et leur constitution chimique, de même que sur les activités métaboliques des tissus (14) . L'ordre de succession de ces processus ne fait toutefois pas l'objet de l'unanimité des chercheurs, les auxines agissant en somme sur toute une chaîne de réactions .

L'auxine est nécessaire à l'élongation des tiges, pédoncules, pétioles et nervures des feuilles . Alors que chez les dicotylédones le limbe ne semble pas dépendre de l'action auxinique, on note au contraire une dépendance absolue des feuilles rubanées des monocotylédones(74).

L'application d'auxine sur des racines sectionnées ou entières, à des doses provoquant la croissance des coléoptiles, inhibe celle de la racine . Le phénomène s'expliquerait par une très grande sensibilité tissulaire . La concentration optimum en auxine pour les racines se situe aux alentours de 10^{-10} à 10^{-11}M alors que pour les bourgeons elle est de 10^{-8}M et de 10^{-5}M pour les tiges (9) . Pour CHADWICK et BURG (19) cette inhibition de croissance des racines par l'AIA serait dûe à la formation induite d'un inhibiteur, l'éthylène .

Quoiqu'on mentionne peu la chose, PILET et NOWAKOWSKI (129) font état du fait que l'AIA peut aussi agir sur la teneur en phosphore des racines et par là intervenir dans les processus de phosphorylation qui participent à la régulation de la croissance . Selon la concentration d'AIA on remarquera des effets opposés (stimulation ou inhibition) .

En résumé, disons que l'auxine est nécessaire à l'élongation des différents axes de la plante .

β Tropismes :

Dans l'état actuel des connaissances, la circonspection ne saurait être trop recommandée en ce qui touche le rôle éventuel de l'auxine sur les phénomènes de tropismes . Bien que la découverte des phytohormones soit rattachée à des études de phototropisme, il faut encore aujourd'hui se contenter d'explications fragmentaires . De même en est-il pour le géotropisme . L'action des auxines y est plus soupçonnée que comprise .

γ Mérèse :

Autre aspect de la croissance, la division cellulaire est, elle aussi, sous la dépendance de l'auxine . Celle-ci se montre en effet active sur les proliférations cambiales, la formation des cals et la parthénocarpie (formation de fruits sans fécondation) .

Cette action de l'auxine sur les divisions cellulaires trouve aujourd'hui une application de choix dans la culture des tissus végétaux .

δ Organogénèse :

En relation avec un autre facteur hormonal du nom de "rhizocaline", l'AIA favorise la rhizogénèse . Parallèlement, la caulogénèse (néoformation de bourgeons) est à la fois sous la dépendance de l'auxine et de la "caulocaline" . Il semblerait que dans ces deux cas l'auxine ait un rôle de différenciation .

De tout ce qui précède, il appert que l'auxine manifeste son action au niveau des trois phases caractéristiques de la croissance, phases qui s'interpénètrent partiellement :

- division cellulaire
- élongation
- différenciation (70) .

Nous nous pencherons maintenant sur les autres types de phytohormones, avant d'envisager plus loin le catabolisme auxinique qu'il eut été logique d'inclure ici, mais qui, en raison de son importance directe sur la nature même de nos travaux, fera l'objet d'une étude séparée .

2) GIBBERELLINES :

Parallèlement aux recherches ayant conduit à l'identification des auxines, les Japonais vers 1926 découvraient une autre catégorie de substances de croissance, les gibbérellines . C'est en étudiant une maladie du Riz causée par le champignon Gibberella fujikaroi et caractérisée par une croissance excessive que fut réalisée l'extraction d'un régulateur de croissance thermostable

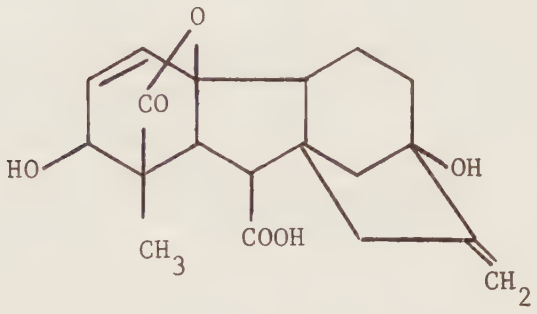
auquel fut donné en 1935 le nom de gibbérelline . L'intérêt des physiologistes occidentaux s'étant polarisé autour des auxines, les recherches sur les gibbérellines se poursuivirent néanmoins au Japon sans qu'on y porte trop attention .

Toutefois vers 1950 un renouveau d'intérêt pour les gibbérellines devait conduire à l'isolement de 5 (1960), 9 (1963) et 13 (1965) gibbérellines à partir de divers champignons et végétaux supérieurs (graines, racines, tiges (53) -) .

L'action des gibbérellines sur la croissance est spectaculaire . Ainsi un chou peut atteindre deux mètres par stimulation gibbérellique . Elément du contrôle endogène des activités de croissance, la gibbérelline est également impliquée dans la dormance (ou tout au moins dans sa levée), la floraison et les réponses à la lumière et à la température (80) . Les gibbérellines ont en commun avec les auxines indoliques de promouvoir les réactions basales de multiplication et d'élongation cellulaires. Mais alors que l'AIA stimule les méristèmes secondaires comme le cambium et inhibe plutôt les méristèmes primaires, l'acide gibbérellique agit en sens inverse (9). De plus son action sur la plante intacte est beaucoup plus importante que celle de l'auxine .

Alors que l' AIA affecte la formation des racines (rhizogénèse), leur croissance et la dominance apicale et cause un retard de l'abscission des feuilles , l'acide gibbérellique (AG_3) paraît jouer un rôle positif en rapport avec la levée de la dormance (75) , la germination, en commandant la sécrétion d' α - amylase qui digérera l'amidon nécessaire au processus (166) et surtout la floraison . Quant à la parthénocarpie (fructification sans fécondation conduisant à l'obtention de fruits sans noyaux), elle est contrôlée à la fois par l' AIA et l' AG_3 mais davantage par ce dernier .

Se rattachant toutes à la famille des diterpénoïdes, les gibbérellines comme les auxines existent chez les plantes à la fois sous forme libre et sous forme liée.



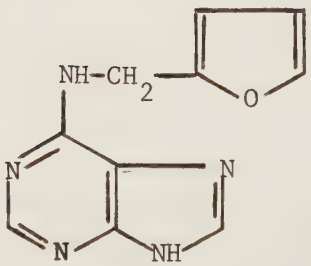
acide gibbérellique (AG_3)

Les interactions entre auxines et gibbérellines ne semblent plus faire l'ombre d'un doute . Il a été suggéré une interférence possible de ces dernières avec l' AIA-O, mais on estime aujourd'hui que la biosynthèse des auxines est accrue sous l'action de la gibbérelline . Pour GASPAR et BOUILLENNE-WALRAND (45), l'acide gibbérellique provoque une modification des effecteurs AIA-oxydasiques présumés de nature phénolique, une inhibition du catabolisme auxinique et une élévation de la teneur en auxines .

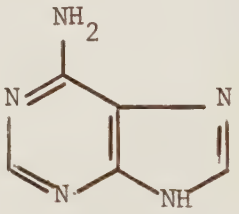
3) KININES :

Les kinines ou cytokinines constituent à côté des auxines du reste indissociables de leur action (98), un facteur important de la division cellulaire .

Isolée de différentes préparations d'acides nucléiques de sources diverses, la kinétine, substance capable d'induire la division cellulaire mais seulement en présence d'auxine, a été identifiée comme la 6- furfuryl-amino-purine , un dérivé de l'adénine, base purique fréquente des acides nucléiques (9) (155) .



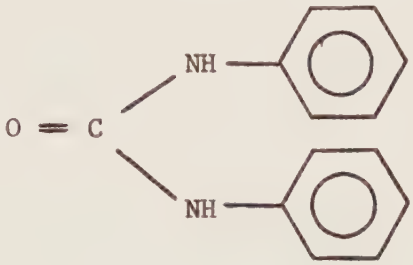
kinétine



adénine

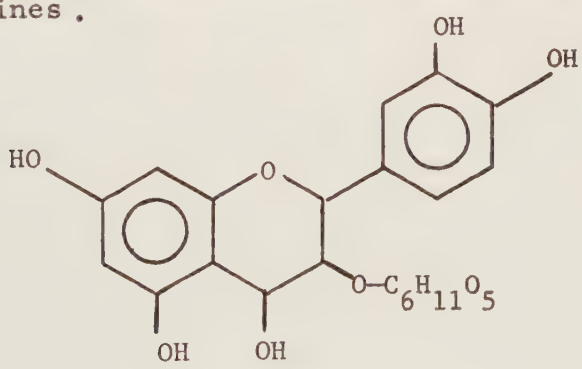
Dans un même ordre d'idées, STEWARD introduit avec succès le lait de noix de Coco dans le milieu nutritif de cultures de tissus phloémiens de Carotte . L'opération a pour but de fournir une espèce d'endosperme liquide constituant en somme la première nourriture de l'embryon . L'inventaire des constituants du lait de Coco nous fait voir qu'il renferme de la 1,3-diphénylurée , de l' AIA, de l'adénine (et non de la kinétine comme

le soupçonnait son utilisateur), divers polyols (sorbitol, mannitol, inositols) (9) (147) et des leucoanthocyannes, également présentes dans l'endosperme liquide et solide des fruits non muris de l'Aesculus .



Diphénylurée

Ces leucoanthocyannes ont un pouvoir mitogène remarquable, surtout sous forme de glucosides (?) (146). On a aujourd'hui tendance à apparenter ces substances aux kinines .



3-glucoside de leucocyanidol

L'addition de kinines favorise la mitose chez les racines mais la réponse du végétal est moins spectaculaire qu'avec les auxines et les gibbérellines .

L'effet principal de ces substances se manifeste sur la différenciation .

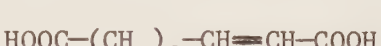
Promoteurs de la croissance des bourgeons , les kinines modifient la dominance apicale . Elles sont également impliquées dans les phénomènes de dormance, de polarité de la croissance et de floraison .

GASPAR et XHAUFFLAIRE (47) notent toutefois que la kinétine inhibe la croissance de segments de racines en activant la peroxydase responsable de l'oxydation de l' AIA .

4) AUTRES PHYTOHORMONES :

Mentionnons à côté des auxines, gibbérellines et kinines, d'autres hormones dites d'organisation, les "calines" . Il semblerait qu'elles soient les facteurs spécifiques de la formation des racines (rhizocalines) , des tiges (caulocalines), des feuilles (phyllo-calines), des fleurs (anthocalines) et de la détermination physiologique du sexe (blastocalines) . Il faut toutefois admettre que leur identification s'est révélée jusqu'à présent plutôt décevante . "Malheureusement, chaque fois qu'on a démasqué l'identité de ces substances, on a reconnu un métabolite ordinaire ou un facteur oligodynamique non spécifique de telle ou telle organogénèse . De sorte que toute caline perd son existence quand on peut lui donner un nom" (74) .

PILET (120) introduit en plus la notion de "traumatine" ou hormone de blessure (de traumatisme) qui apparaît à la suite d'un dommage aux tissus . L'acide traumatique serait en fait l'acide Δ' - décène-1,10 -dicarboxylique .



Acide traumatique

La participation des vitamines aux phénomènes de croissance est d'autre part un fait généralement admis. Elles interviendraient au niveau des réactions fondamentales communes à tous les êtres vivants (9), contrairement aux phytohormones classiques dont les actions physiologiques demeurent spécifiquement liées au contexte végétal . Il existe néanmoins des interactions entre vitamines et auxines (48) .

*

B) DESTRUCTION ENZYMATIQUE DE L'AIA : LES AUXINES-OXYDASES

1) Définition :

Le terme d'auxines-oxydases on s'en doute est utilisé pour désigner le ou les systèmes enzymatiques qui inactivent les auxines et en particulier l'AIA de manière oxydative . Alors que plusieurs auteurs utilisent l'expression plus restrictive d'acide indoleacétique-oxydase (AIA-O), HARE (58) préconise l'usage du terme "auxinase" . Désireux de demeurer à l'écart de cette querelle de terminologie et tenant pour équivalentes ces appellations , nous les employerons indifféremment .

2) Distribution des Auxines-Oxydases dans le Règne Végétal et à l'Intérieur des Plantes Elles-Mêmes :

Dans ses très intéressantes mises au point sur les auxines-oxydases, GASPAR (40) (41) résume l'état actuel des connaissances et établit une liste déjà importante de plantes présentant des systèmes auxines-oxydasiques .

L'universalité des auxines dans le monde végétal justifie amplement le soupçon qui porte à croire que toutes les espèces végétales renferment des auxines - oxydases . La chose semble aller de soi . Il n'a cependant pas été possible jusqu'à maintenant de vérifier cette répartition générale, les méthodes utilisées étant imparfaites . Il est facile de concevoir que simultanément à l'extraction de l'enzyme, un ou plusieurs inhibiteurs naturels contenus dans les tissus utilisés masquent

l'activité à un degré plus ou moins grand . C'est la conclusion à laquelle GASPAR et PILET (46) arrivent lorsque non seulement ils se rendent compte de l'activité auxines-oxydasique nulle des extraits de Salvia splendens, mais s'aperçoivent que ces mêmes extraits inhibent la très évidente action de ceux de Lens .

En plus de Lens culinaris, largement utilisé comme matériel pour la préparation d'extraits enzymatiques d'AIA-O, extraits dont la spécificité à l'égard de l'AIA n'est toutefois pas absolue (124), mentionnons les auxines-oxydases du Pisum, qui font l'objet de purification partielle (24), de diverses espèces de Nicotiana (115), de Prunus cerasifera (156), Prunus persica, Coleus (67) (68) et Gossypium (Coton) (102) (103) . RAY et THIMANN (139) mettent également en évidence un système auxines-oxydasique chez le champignon Omphalia flavida.

Il existe aussi des bactéries susceptibles de dégrader l'AIA . RIVIERE (144) rapporte le cas des microorganismes de la rhizosphère du Blé qui l'utilisent comme source d'amino-acides . On comprend l'effet qui peut se faire ainsi sentir sur la croissance des racines .

La distribution interne de l'activité auxines-oxydasique varie avec les espèces . Des différences importantes sont notées selon les organes considérés . Leur teneur en AIA-O est liée semble-t-il à leur exposition plus ou moins grande à la lumière (41) .

Les racines manifestent souvent une activité auxines-oxydasique notoire . Les épicotyles (61) étiolés et les racines de Pois en sont d'autant plus riches que les tissus considérés sont plus âgés . Les mêmes remarques s'appliquent aux racines de Lentille , coléoptiles d'Avoine et de Blé, fragments de Carotte cultivés

in vitro et tiges de Haricot . L'AIA-O est probablement présente aussi dans les feuilles vertes mais elle n'a pu être révélée jusqu'à ce jour car ces dernières contiennent des quantités appréciables d'inhibiteurs (58) .

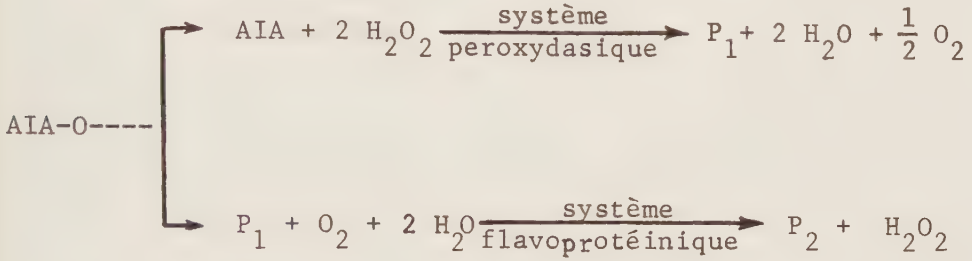
3) Nature Chimique : (40) (41) (58)

On admet aujourd'hui que l'activité auxines-oxydasique est liée à une hémoprotéine réversiblement oxydée ou réduite . L'unanimité semble vouloir se faire pour considérer cette hémoprotéine comme une peroxydase (43) . Cette hypothèse trouve d'ailleurs sa confirmation en ce que la catalase et le platine colloïdal, tous deux capables de détruire H_2O_2, inhibent l'activité AIA-oxydasique alors qu'au contraire le peroxyde la favorise. Au surplus on a constaté que le guaiacol, substrat peroxydasique, inhibe compétitivement l'oxydation de l'AIA .

GALSTON et DALBERG (37) montrent que la peroxydase cristallisée de Raifort peut aussi avec l'aide de certains cofacteurs oxyder l'AIA et ce avec ou sans H_2O_2 , ce qui apporte à la conception énoncée plus haut une vraisemblance additionnelle . L'intervention du peroxyde d'hydrogène a d'ailleurs été confirmée par les travaux de PILET qui constate qu'en présence de celui-ci, la phase d'induction enzymatique (période de latence) est supprimée alors que la vitesse de la réaction est augmentée .

D'autre part, l'observation selon laquelle les préparations brutes d' AIA-O sont activées par la lumière amène les chercheurs à soupçonner la participation d'autres enzymes en plus de la peroxydase dans le système AIA-oxydasique . Or le spectre d'action de la lumière ressemble étroitement au spectre d'absorption de la riboflavine . Le photorécepteur n'étant pas dialysable, il est suggéré que le constituant activé par la lumière soit une flavoprotéine .

Il est ainsi proposé que l'AIA-O soit en fait un complexe enzymatique résultant du couplage d'une flavoprotéine génératrice d' H_2O_2 et d'une peroxydase utilisant le peroxyde produit pour oxyder l'AIA . La réaction est semble-t-il inhibée par l'ion manganèse ou un inhibiteur naturel parce qu'ils décomposent H_2O_2 . Toutefois la lumière surmonte ces interférences en augmentant la production de peroxyde grâce au système flavoprotéinique .



P_1 et P_2 : produits d'oxydation de l'AIA.

On n'a pas encore réussi à identifier le substrat flavoprotéinique proposé comme base de la réaction initiale conduisant à la formation d'H_2O_2 . Comme il semble pertinent de croire que la peroxydase peut dégrader l'AIA sans le concours du peroxyde, il est possible que ce dernier émane plutôt de l'AIA lui-même que de la flavoprotéine . L'activité peroxygénique de l' AIA a du reste été démontrée expérimentalement . D'ailleurs la peroxydase cristallisée peut à elle seule oxyder l'AIA après une période de latence plus ou moins longue . D'autre part les fractions peroxydasique et flavonique sont séparées par des techniques de fractionnement propres .

Il a été avancé que l'intervention de la peroxydase serait oxygénasique, ce qui expliquerait la destruction de l'AIA par la peroxydase ferrique sans apport de peroxyde exogène .

Ultérieurement, il a été démontré que les flavoprotéines ne sont pas un constituant essentiel des systèmes AIA-oxydasiques à base de peroxydase . Cependant la coopération des flavoprotéines et des peroxydases in vivo ou dans les préparations enzymatiques brutes ne peut pas être rejetée irrévocablement .

De plus, tout récemment, SIEGEL et GALSTON (149) réussissant à séparer les éléments structuraux de la peroxydase de Raifort,ont démontré que l'activité AIA-oxydasique résidait dans la partie "apoenzyme" . En effet, le fragment "haeme" prosthétique a une activité AIA-oxydasique nulle alors que l'holoenzyme n'est pas plus actif que l'apoprotéine le constituant .

GASPAR (40) assure que l'accord au sujet de la participation du fer à la constitution du composant métalloprotéique de l'enzyme est un fait acquis. RICARD et NARI (141) notent du reste la réduction de la ferriperoxydase de Raifort par l'AIA .

On se demande aussi dans quelle mesure le cuivre pourrait être impliqué, étant donné son caractère oxydoréductible marqué . L'inhibition obtenue par des chélateurs spécifiques du cuivre milite en faveur d'une protéine cuprique plutôt que ferrique . Les tenants de cette hypothèse estiment que l'inhibition par CO notée par d'autres auteurs correspond davantage à une déficience d'oxygène . D'ailleurs les plantes d' Orge , privées du cuivre et du molybdène que leur culture réclame, manifestent une activité auxines-oxydasique remarquablement réduite . L'addition de cuivre (mais non de molybdène) rétablit cette activité . Au surplus l'activité enzymatique ne souffre pas de déficiences en fer,

zinc ou manganèse . Ainsi est posée l'hypothèse, du moins chez l'Orge, d'une AIA-O cuprique, dont le molybdène accélère la formation .

Ces conclusions fort séduisantes ne doivent toutefois pas faire oublier que la synthèse de la chlorophylle souffre d'une déficience en fer, quoiqu'elle ne contienne pas ce métal dans sa molécule .

Or il est bien connu qu'un apport insuffisant en cuivre peut se traduire par une déficience en enzymes ferriques . C'est le cas par exemple des cytochromes-oxydases . D'autre part, GOLDSCHMIDT , GOREN et MONSELISE (52) tiennent l'ion Cu^{++} pour inhibiteur du moins de l'AIA-O des racines de Citrus . La question reste entière et il faut en arriver à des éclaircissements pour pouvoir juxtaposer toutes les constatations .

4) Mécanisme de la Réaction Enzymatique : (40)

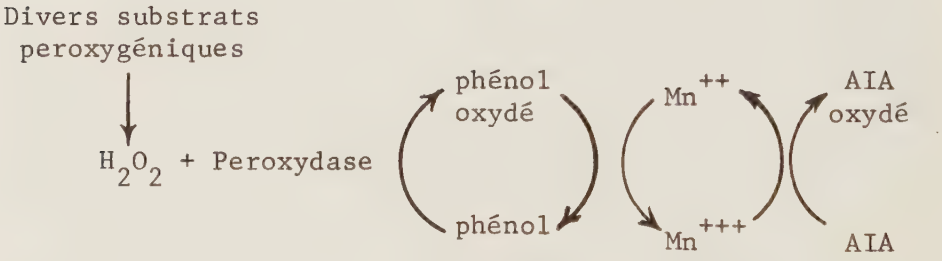
Il est proposé que la peroxydase des racines de Raifort et autres espèces catalyse l'oxydation de l'ion Mn^{++} en Mn^{+++} , ceci en présence de H_2O_2 et d'un facteur thermostable considéré comme un substrat peroxydasique . Le Mn^{++} réduit le substrat peroxydasique oxydé . Le Mn^{+++} formé réagirait avec d'autres substrats oxydables, pour de faibles concentrations en H_2O_2 . L' AIA serait ce substrat oxydable par le Mn^{+++}.

La composante thermostable souffre la substitution par un phénol tel que l'o-ou le p-crésol ou le résorcinol . Le quinol, le catéchol, le pyrogallol et l'acide caféique se montrent pour leur part impropres à cumuler de telles fonctions .

H_2O_2, phénol, peroxydase et Mn^{++} qui tous existent dans la plante peuvent réagir entre eux, ceci

aboutissant à la formation de Mn^{+++} qui serait en fait le responsable direct de cette oxydation de l' AIA . Du reste,MACLACHLAN et WAYGOOD (84) parviennent même à dégrader l'AIA par différents chélates du Mn^{+++} à certains pH déterminés permettant la libération du cation .

Le schéma suivant est proposé par KENTEN (rapporté par GASPAR (40) -) :



En approfondissant l'étude, MACLACHLAN et WAYGOOD attribuent aux enzymes et cofacteurs connus un rôle rationnel .

Initiation :

$$Mn^{++} \xrightarrow[+ ROH]{\text{peroxydase et catalase}} Mn^{+++}$$

Propagation :

$$Mn^{+++} + S\text{—}COOH \longrightarrow Mn^{++} + H^{+} + S\text{—}COO^{\bullet}$$

$$S\text{—}COO^{\bullet} \longrightarrow S^{\bullet} + CO_2$$

$$S^{\bullet} + O_2 \longrightarrow SO_2$$

$$SO_2 + ROH \xrightarrow[\text{ou catalase}]{\text{peroxydase}} RO^{\bullet} + SO_2H$$

$$RO^{\bullet} + H^{+} + Mn^{++} \longrightarrow ROH + Mn^{+++}$$

Terminaison :

$$SO_2^{\bullet} + \text{enzyme} \longrightarrow (SO_2\text{-enzyme})$$

$$Mn^{+++} + ROH \longrightarrow RO^{\bullet} + H^{+} + Mn^{++}$$

$$2\ RO^{\bullet} \longrightarrow \text{produits}$$

S—COOH : AIA

$S^{\bullet}$: radical scatole

SO_2 : radical scatole oxydé ou peroxyde d'indole

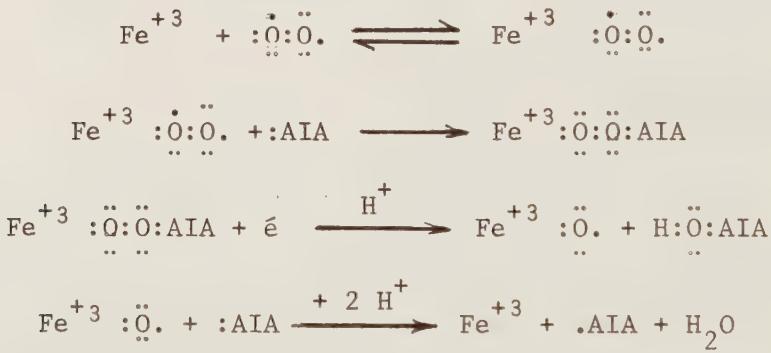
SO_2H : produit final de la réaction

ROH : cofacteur phénolique (exemple : résorcinol)

$RO^{\bullet}$: radical semi-quinol ou aryl

On aura noté la substitution du peroxyde d'indole au H_2O_2 ce qui expliquerait l'oxydation directe de l'AIA par la peroxydase sans addition d'H_2O_2 . La catalase purifiée n'empêche pas la réaction ; d'ailleurs ses effets inhibiteurs rapportés plus haut seraient attribuables à une impureté dialysable . En effet, il est possible de substituer la catalase purifiée à la peroxydase mais le doute persiste sur l'éventuelle participation de la catalase au système AIA-oxydasique (2) .

Pour FOX, PURVES et NAKADA (32) , l'oxydation de l'AIA par la peroxydase de Raifort consiste en un rapide échange entre l'eau et l'oxygène biradicalaire sous la coordination de l'ion ferrique . L'ensemble de la réaction peut se schématiser de la façon suivante :



Notons en terminant que chez la Lentille la peroxydase active est de nature basique (113) .

Action des Phénoloxydases :

Le système enzymatique que nous venons d'étudier n'est toutefois pas le seul à pouvoir inactiver l' AIA . Plusieurs phénoloxydases y sont également aptes . C'est le cas de la tyrosinase, enzyme cuprique obtenu de certains champignons ou de feuilles d' Osmunda ; la présence de catéchol ou de pyrogallol est toutefois nécessaire .

Mentionnons également la laccase (phénolase) et le système acide chlorogénique-phénoloxydase .

L'aptitude à oxyder l' AIA serait en fait liée à la capacité d'oxyder les phénols en milieu acide .

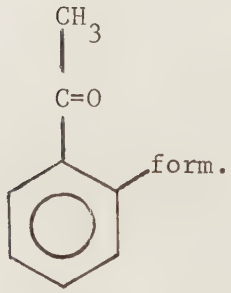
De plus il faut noter que le déclenchement du processus d'inactivation ou de dégradation enzymatique exige une certaine quantité d' AIA en-dessous de laquelle l'AIA-O n'est pas activée (38) .

5) Produits de la Réaction :

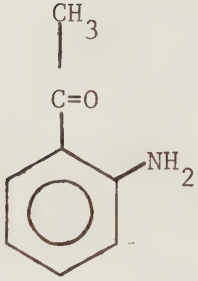
Les produits de la dégradation auxinique ne sont pas encore connus avec certitude . Le processus enzymatique donne naissance dans une certaine mesure à l'indole-3-aldéhyde mais la stoéchiométrie n'est pas respectée, ce qui conduit à penser que seule une fraction (5%) de l'AIA participe à la formation de l'aldéhyde .

L'identification des produits pose un problème particulier car les métabolites se livrent à des interconversions qui ne facilitent pas la tâche de l'analyste . A ce sujet, RAY (136) (137) n'exclut pas certaines polymérisations .

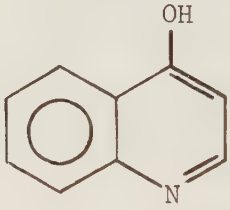
Jusqu'à présent ont été identifiés : o-formamido-acétophone, o-amino-acétophénone et 4-hydroxyquinoléine qui seraient des produits intermédiaires, l' hydroxy-o-aminoacétophénone constituant éventuellement le principal métabolite .



o-formamido-acétophénone



o-amino-acétophénone



4-hydroxyquinoléine

Du scatole (β - méthylindole) peut également se former à partir de l'AIA sous l'action de l'enzyme de Lens . Le métabolite freine ensuite l'activité AIA - oxydasique, ce qui correspond à un véritable effet de rétro-action ("feed-back") où le scatole inhibe la première étape des réactions qui aboutissent à sa formation . On peut alors parler d'autorégulation (123) .

RAY et THIMANN (139) estiment qu'un composé du type oxindole forme le principal produit de la réaction enzymatique .

PILET, à l'aide de molécules marquées, en arrive à la conclusion que la dégradation enzymatique se fait en deux étapes :

- la chaîne latérale se raccourcit par décarboxylation oxydative . Ceci donne naissance à l'indolealdéhyde .
- le noyau se dégrade par décyclisation du pyrrole . Il se forme à partir de l'AIA ou de l'aldéhyde d'autres dérivés non indoliques .

On a aussi envisagé la possibilité que soient formés par voie enzymatique des complexes impliquant l'AIA . Ainsi a été mis en évidence l'acide β - indole-acétyl-aspartique .

De tout ceci il ressort que les produits majeurs de l'oxydation de l'AIA ne sont pas encore connus avec certitude . Seule la β - indolealdéhyde a fait l'objet d'une identification définitive . Elle ne représente toutefois qu'un produit mineur de la réaction (40) .

6) AIA-Oxydase et Physiologie :

Quoique certaines fonctions de l'AIA soient encore hypothétiques, des jalons ont été posés qui plaident en faveur de l'importance capitale de cette substance et des autres phytohormones dans les phénomènes de croissance végétale . Toutefois la signification de l'AIA-O dans la physiologie des plantes demeure obscure . Etant donné la régulation de la croissance cellulaire propre à l' AIA et la corrélation inverse entre le contenu enzymatique (AIA-O) et la croissance, il est logique de penser que la destruction enzymatique de l'AIA détermine la quantité effective de l'hormone dans la plante . L'auxine-oxydase régulerait de la sorte la croissance en contrôlant le taux hormonal .

a) Sénescence :

Dès 1954 , GALSTON et DALBERG (37) étudiant le système auxines-oxydasique du Pisum sativum, font état des relations existant entre l'activité enzymatique et le vieillissement des tissus . En effet, les auteurs remarquent que la destruction in vitro de l' AIA est nettement supérieure lorsqu'elle intéresse des tissus âgés de préférence à des tissus jeunes . Les cellules qui vieillissent perdent leur pouvoir de croissance, mais on remarque une augmentation de leur activité auxines-oxydasique . L'enzyme se formerait même de façon adaptative, en réponse à une accumulation d' AIA .

Toutes les écoles ne l'entendent pas ainsi car il est d'autre part proposé que le vieillissement résulte du jeu des activateurs et inhibiteurs AIA-oxydasiques . Sans souscrire définitivement à cette explication, YONEDA et STONIER (171) en arrivent à des conclusions générales similaires d'où se dégage encore une corrélation inverse entre le taux de croissance et la présence d'un système dégradant l' AIA .

b) Dominance Apicale :

Pour GALSTON et DALBERG (37) la dominance apicale trouve son explication dans une augmentation de l'activité de l' AIA-O des bourgeons latéraux, activité induite "adaptativement" par le courant d'auxine provenant du bourgeon terminal . La croissance des bourgeons latéraux s'en trouve ainsi réduite en raison de la destruction de l'auxine . Cette hypothèse clarifie le paradoxe né du fait que la dominance apicale s'élève plus on s'éloigne du sommet , étant donné que les bourgeons basaux sont davantage riches en AIA-O .

c) Chute des Feuilles :

L'abscission des feuilles résulte d'une diminution du transport d'auxine du limbe vers le pétiole. L'évidence d'activités oxydasiques et catalasique plus élevées dans les zones d'abscission que dans les tissus adjacents permet de soupçonner que l' AIA-O n'est pas étrangère au phénomène de la chute des feuilles. On estime d'ailleurs que la perte des feuilles qui se manifeste chez le Café à la suite d'une infection par Omphalia flavida est le résultat d'une destruction accrue de l'auxine par l'AIA-O du champignon.

d) Différenciation des Tissus :

A la lumière de travaux récents, GASPAR (40) mentionne aussi la possibilité pour le système auxines-oxydasique de contrôler la différenciation vasculaire qu'accélère un traitement auxinique.

Le système AIA-oxydase-peroxydase semble avoir un rôle à jouer dans la lignification. Il est du reste intéressant de noter avec JACOBSON et CAPLIN (65) que dans les vaisseaux duxylème,un précurseur de la lignine se comporte comme inhibiteur de l' AIA-O.

e) Nanisme :

Dès 1935, VAN OVERBEEK remarque que les tissus d'une variété naine de Maïs détruisent plus d'auxine que les tissus correspondants de plantes normales. Leur contenu auxinique est également moins élevé. Ces résultats ont par la suite été confirmés chez plusieurs autres végétaux grâce aux travaux de différents chercheurs.

Le phénomène semble en rapport avec les gibbérellines qui par leur action sur l' AIA-oxydase contrôleraient la quantité effective d'auxine endogène .

Il est du reste intéressant de noter qu'un effet de toxicité manganique se manifeste chez le Coton par une mauvaise croissance des entrenœuds et des feuilles (104) , le rôle du manganèse comme activateur de l'AIA-O étant largement admis . Ainsi MORGAN, JOHAM et AMIN (104) avancent l'hypothèse que les symptômes de la toxicité manganique du Coton sont l'expression d'une déficience en auxine causée par une hyperactivité de l' AIA-O , à cause d'un taux anormalement élevé de manganèse dans les tissus .

Quoi qu'il en soit, les relations entre catabolisme auxinique et croissance feront plus loin l'objet d'une étude séparée .

Mentionnons en dernier lieu que les phénomènes de tuméfaction végétale, que cause le plus souvent un agent pathogène, peuvent être plus ou moins expliqués par l'intermédiaire du système AIA-oxydasique soumis à l'action d'inhibiteurs élaborés par les microorganismes .

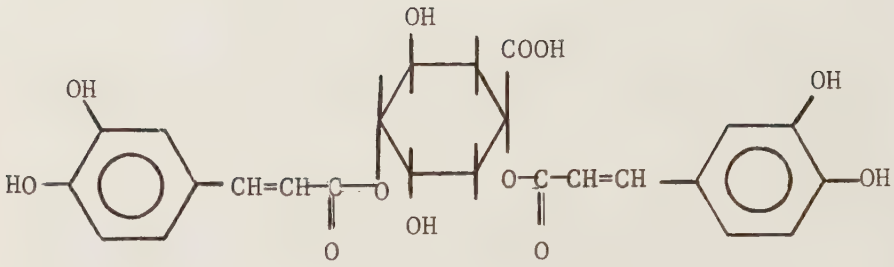
En ce qui concerne l'induction florale, il faut semble-t-il faire appel à un autre facteur pour l'expliquer. Pour HILLMAN et GALSTON (62) le phénomène est étroitement relié à la photopériode . Les auteurs mettent du reste en évidence un contrôle induit de l' AIA-O par les lumières rouge et infra-rouge, la première inhibant l'enzyme et la seconde levant cette inhibition . Il n'est pas exclu que cette activité sur l'AIA-O s'exerce par l'intermédiaire d'inhibiteurs dont la lumière contrôlerait en fait l'existence .

C) LE PHENOMENE SYNERGIQUE ET SON EXPLICATION :

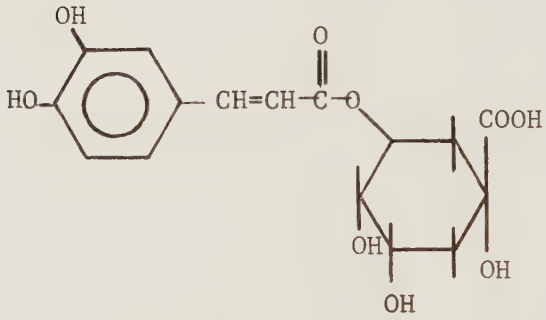
1) Potentialisation de la Croissance Auxinique :

Plusieurs inhibiteurs naturels de la germination manifestent vis-à-vis de la croissance de certains organes végétaux, aériens surtout, de curieuses propriétés synergiques en potentialisant à basse concentration la croissance induite par l'auxine . A des concentrations élevées, elles se révèlent plutôt inhibitrices (80) . Ce sont apparemment THIMANN et BONNER qui en 1949 remarquent ce curieux comportement de la coumarine . Mais on sait aujourd'hui que de tels effets de synergie sont communs à de nombreux phénols et flavonoïdes .

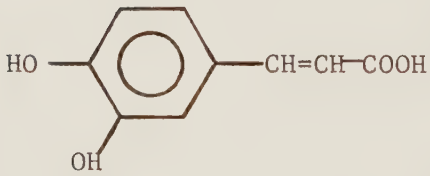
NITSCH et NITSCH (106) mettent en évidence une synergie d'action entre les dérivés de l'acide chlorogénique et l'AIA . Ainsi cynarine, acide chlorogénique et acide caféique manifestent à l'aide du test mésocotyle leurs propriétés synergiques en présence d'auxine . D'autre part, VENDRIG et BUFFEL (168) attribuent à l'acide trans-caféique des propriétés auxiniques vraies. Leurs résultats se comparent à ceux obtenus avec l'acide indole-acétique lui-même .



cynarine (+)



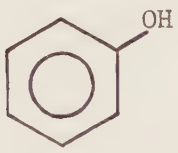
acide chlorogénique (+)



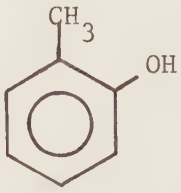
acide caféique (+)

(+) : synergie
(-) : inhibition

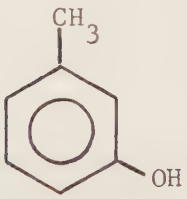
A l'aide d'un test biologique qu'ils avaient antérieurement proposé (test "premiers entrenœuds ou mésocotyles d'Avoine"), NITSCH et NITSCH (107) entreprennent l'étude systématique de l'activité des différentes catégories de composés phénoliques . De leurs travaux, il ressort que les monophénols (phénol, o-crésol, m-crésol et p-crésol) ont une action inhibitrice sur la croissance des entrenœuds (en présence d'AIA) .



phénol (-)



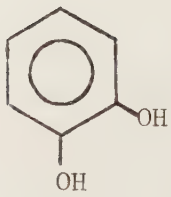
o-crésol (-)



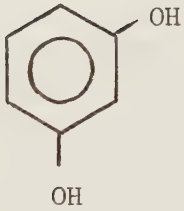
m-crésol (-)

p-crésol (-)

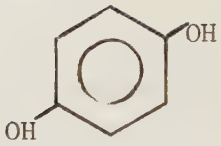
Parmi les diphénols étudiés, seul le catéchol se montre faiblement synergique, alors que le résorcinol et l'hydroquinone sont considérés comme inhibiteurs. En ce qui concerne les triphénols (pyrogallol et phloroglucinol), les auteurs notent une "certaine "action synergique .



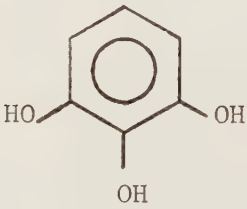
catéchol (+)



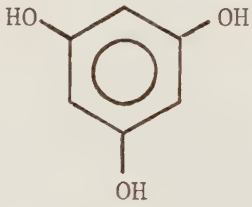
résorcinol (-)



hydroquinone (-)



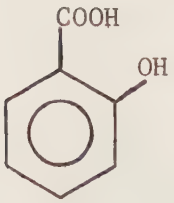
pyrogallol (+)



phloroglucinol (+)

Les acides hydroxybenzoïques ont des effets différents selon le nombre et la position de leurs substituants. L'acide benzoïque et ses dérivés monosubstitués (acides salicylique, p-OH-benzoïque et p-amino-benzoïque) peuvent être considérés comme inhibiteurs quoique l'acide benzoïque lui-même manifeste aux environs de 10^{-4} M une légère stimulation .

acide benzoïque (-)

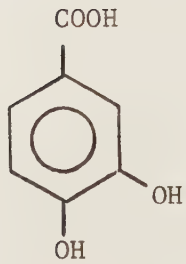


acide salicylique (-)
ou o-OH-benzoïque

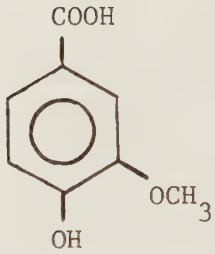
acide p-OH-benzoïque (-)

acide p-aminobenzoïque (-)

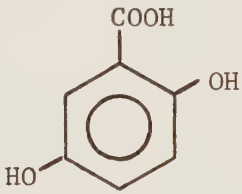
Toujours selon NITSCH et NITSCH les dérivés bisubstitués de l'acide benzoïque ont à cet égard un comportement différent. Alors que l'acide protocatéchique est faiblement synergique, l'acide gentisique l'est sensiblement plus à basse concentration. Pour sa part, l'acide vanillique a successivement des effets négatifs, positifs et de nouveau négatifs.



acide protocatéchique
(+)

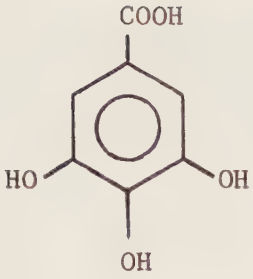


acide vanillique
(-) (+) (-)

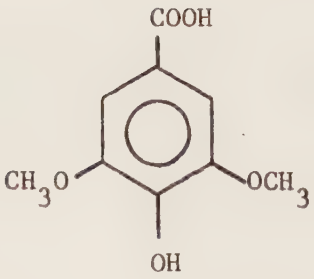


acide gentisique (+)

Les acides trihydroxybenzoïques doivent être considérés comme potentialisateurs . Du moins est-ce le cas de l'acide gallique et de son homologue diméthylé, l'acide syringique .

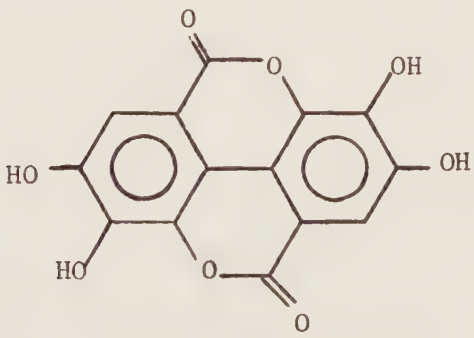


acide gallique (+)



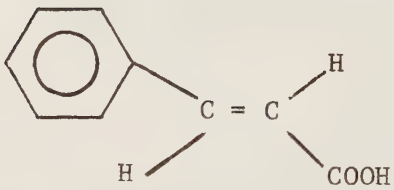
acide syringique (+)

Les mêmes considérations s'appliquent à l'acide ellagique qu'on homologue à la juxtaposition de deux molécules d'acide gallique .



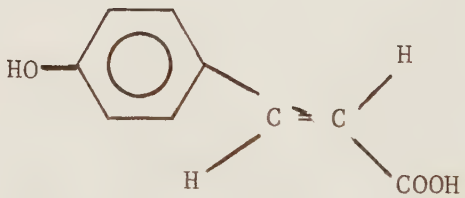
acide ellagique (+)

Abordant ensuite l'étude des acides hydroxycinnamiques, les auteurs attribuent aux représentants monosubstitués de cette catégorie des propriétés inhibitrices accusées . C'est le cas des acides trans-cinnamique et para-coumarique .

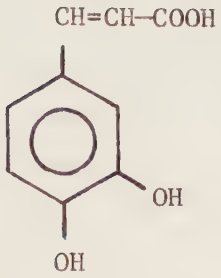


acide trans-cinnamique (-)

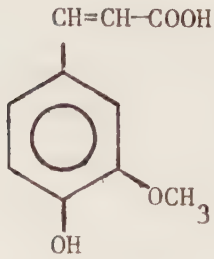
acide para-coumarique (-)



Corroborant par là leurs travaux antérieurs ils notent encore une fois l'action synergique de l'acide caféique, dont le dérivé de méthylation en para, l'acide férulique se montre au contraire fortement inhibiteur, les acides dihydroxycinnamiques se révélant de la sorte différents sous ce rapport .



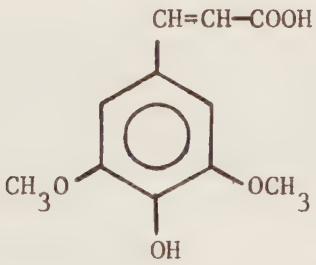
acide caféique (+)



acide férulique (-)

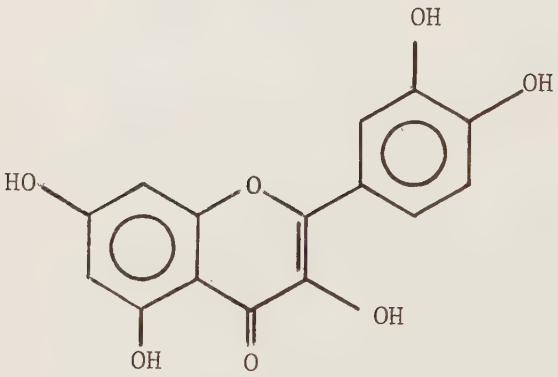
BARDINSKAJA et coll. (4) notent au contraire une accélération de la croissance des coléoptiles de blé par l'acide férulique .

Dans la série des acides trihydroxycinnamiques, l'acide sinapique, dérivé diméthylé se montre lui aussi capable de synergie .

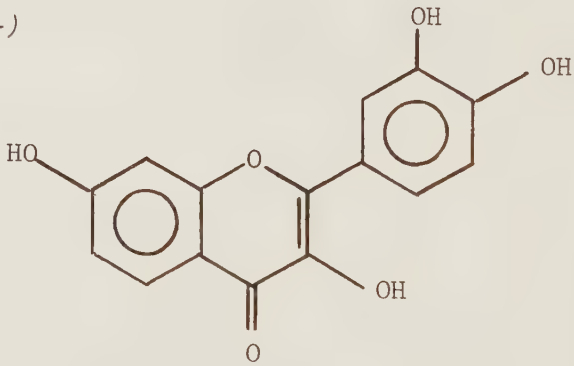


acide sinapique (+)

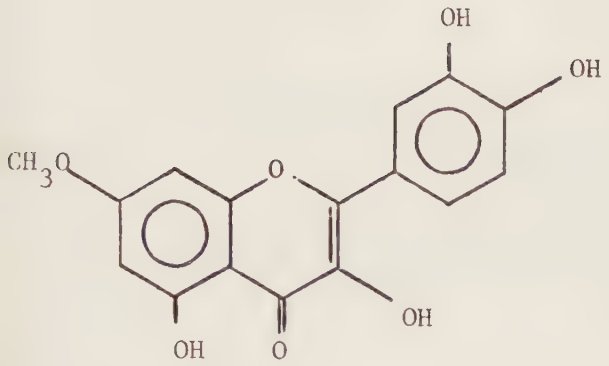
Passant ensuite à l'étude des flavonoïdes NITSCH et NITSCH remarquent que les quatre flavonols considérés (quercétine, fisétine, rhamnétine et kaempférol) sont synergiques de l' AIA .



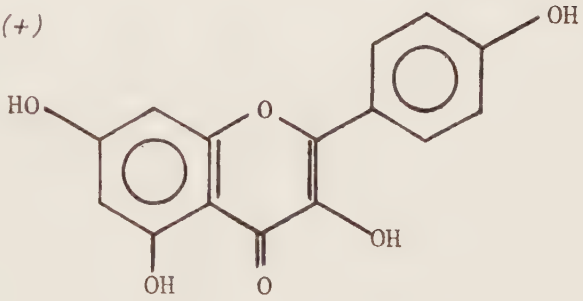
quercétine (+)



fisétine (+)

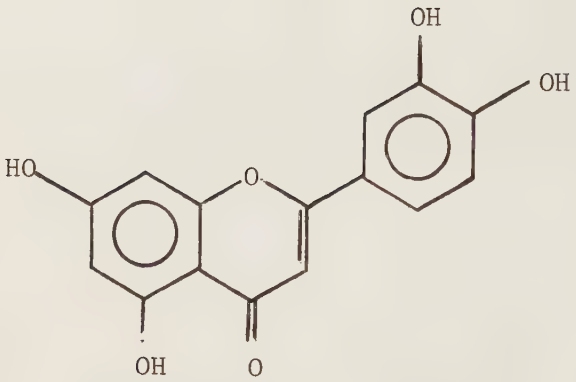


rhamnétine (+)

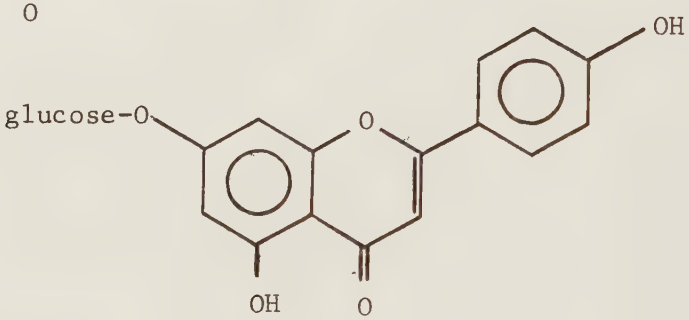


kaempférol (+)

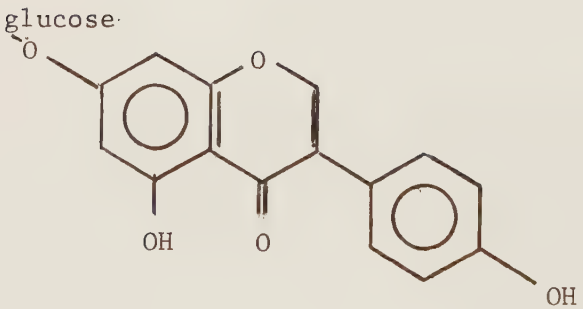
Les effets des flavones et isoflavones correspondantes ne sont pas forcément en rapport avec ceux de leurs analogues flavonols . La lutéoline est légèrement synergique alors que l'apigénine-7-glucoside et la génistine sont inhibiteurs .



lutéoline (+)

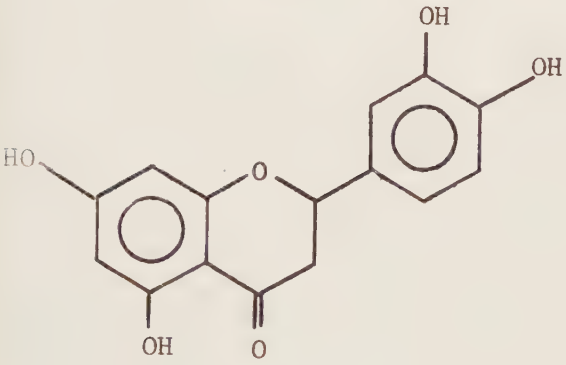


apigénine-7-glucoside (-)

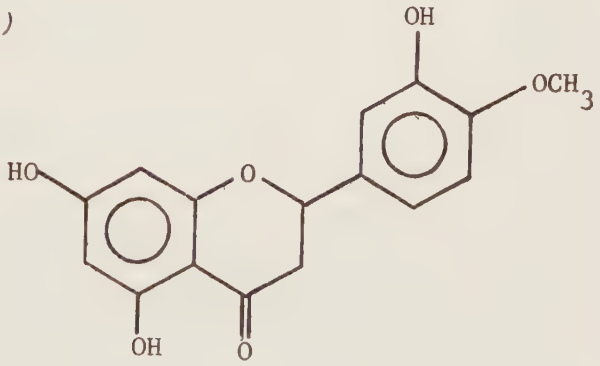


génistine (-)
(génistéine-7-glucoside)

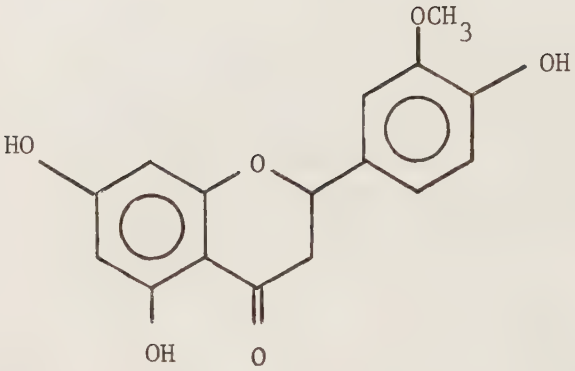
Les effets des flavanones sont également personnalisés et on peut croire que ce sont les substituants qui en déterminent l'activité . Eriodictyol et hespérétine sont fortement synergiques . La naringénine est inhibitrice alors que l'homoériodictyol possède alternativement les deux propriétés, tout dépendant de la concentration .



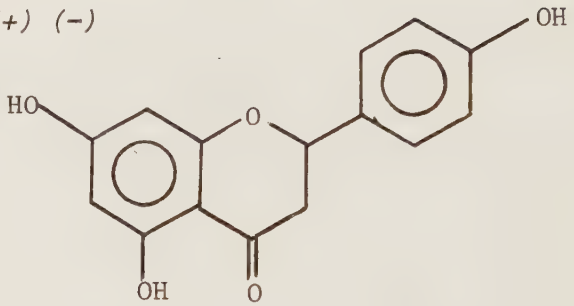
ériodictyol (+)



hespérétine (+)

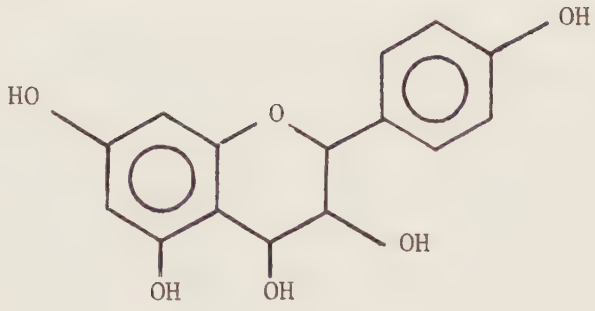


homoériodictyol (+) (-)



naringénine (-)

Les anthocyannes et leucoanthocyannes sont en général synergistes de l'AIA . C'est le cas de la goratensidine, une leucoanthocyanne extraite de Cassia goratensis que NITSCH et PARIS (108) estiment extraordinairement active sous ce rapport . Cette synergie est de l'ordre de 200% à la concentration de 10^{-3}M en présence de 10^{-7}M d' AIA .



goratensidine (+)

De tout ceci il ressort qu'en général les monophénols peuvent être considérés comme inhibiteurs de la croissance induite par l'AIA . Les orthodiphénols sont plutôt synergistes alors que les métadiphénols se montrent inhibiteurs .

La plupart des polyphénols présentent une synergie évidente; celle-ci est toutefois fonction des substitutions présentes qui peuvent en atténuer ou en exalter le caractère et l'intensité .

2) Explication du Phénomène :

Dans le but d'élucider le phénomène synergique il a été suggéré que la potentialisation de la croissance auxinique manifestée par certaines substances, en particulier des phénols, est due à la compétition de l'auxine et de l'inhibiteur pour des sites inactifs, ce qui aurait pour résultat d'augmenter l'efficacité de l'hormone , ceci pour de basses concentrations d'inhibiteurs .

C'est ANDREAE en 1952 qui pour la première fois parle d'inhibition de l'acide indole-acétique-oxydase pour expliquer l'effet stimulateur d'une lactone, la scopolétine, sur la croissance .

Toutefois dès 1948, TANG et BONNER avaient décrit un système auxines-oxydasique que voisine un inhibiteur dans les épicotyles de Pois . Ce sont ensuite GORTNER et KENT (54) qui étudient l' AIA-O de l'Ananas et postulent la présence d'un inhibiteur thermostable, dialysable et détruit par la lumière qu'ils homologuent à un polyphénol . Les recherches ultérieures de ces auteurs (55) les amènent à penser qu'une autre substance phénolique, soit l'acide p-coumarique, soit l'acide quinique, agit comme coenzyme . Ce coenzyme ne serait toutefois pas spécifique car sa substitution par l' α - ou le β - naphtol ne modifie pas l'activité .

Enfin RITZERT et coll. (143) parlent d'un système auxines-oxydasique et de son inhibiteur dans les semences de Pêcher . L'inhibiteur de l'enzyme serait la d-catéchine dont nous avons mentionné plus haut les propriétés synergiques de l' AIA .

Pour RABIN et KLEIN (134) , les acides chlorogénique et caféique sont aussi inhibiteurs de l'AIA-O . Selon les auteurs le premier agirait de façon compétitive, ce qui n'est cependant pas le cas du second . Les résultats

obtenus ultérieurement par BLUMENTHAL - GOLD - SHMIDT (16) qui isole ces mêmes composés à côté d'autres phénols dans les semences de Laitue sont en accord avec les précédents .

Les auteurs qui expliquent le phénomène potentialisateur des inhibiteurs synergiques par un blocage de l' AIA-O sont aujourd'hui légion . Un bref coup d'œil sur la littérature consacrée au sujet est à cet égard révélateur .

A l'encontre de VENDRIG et BUFFEL (168) qui attribuent ni plus ni moins des propriétés auxiniques vraies à l'acide trans-caféique, THIMANN, TOMASZEWSKI et PORTER (160) estiment que la potentialisation de croissance résulte d'une inhibition du système enzymatique oxydant l'acide indole-acétique . Les auteurs remarquent qu'il s'agit en fait d'une synergie avec l'AIA puisque ce dernier est indispensable à la stimulation caféique .

HENDERSON et NITSCH (60) se rallient à cette conception . Ils concluent que l'effet synergique des acides chlorogénique et caféique est dû à une inhibition de l' AIA-O . Ces produits préservent en somme la phytohormone de la destruction enzymatique, ce qui se traduit par une croissance plus grande . Ils sont en quelque sorte des "protecteurs d'auxine" . En revanche, les mêmes auteurs constatent que les monophénols tels que l'acide p-coumarique se comportent comme des antagonistes de la croissance auxinique en activant, tels des cofacteurs, le système AIA-oxydasique .

VARGA et KOVES (167) étudiant les modifications d'activité de l' AIA-O par les phénols affirment que l'effet est relié à la nature du composé . Pour eux, les monophénols n'affectent pas l'AIA-O alors que les polyphénols en sont fortement inhibiteurs et d'autant plus

qu'on élève la concentration d'AIA . La coumarine est sans effet sur le système; la vanilline le stimule . Les auteurs concluent que si les effets d'inhibition de croissance ne peuvent être reliés à l'action sur l'enzyme des substances impliquées, les phénomènes de potentialisation trouvent au contraire grand profit à une explication faisant intervenir la protection de l'auxine . De leur côté, FURUYA , GALSTON et STOWE (35) estiment que les monophénols activent l'oxydation de l' AIA alors que les diphénols et les polyphénols inhibent la réaction . Une solution de tanin à 5.10^{-5}M peut aussi inhiber l'AIA-O-(174) .

S'attaquant dans le même esprit à la classe des flavonoïdes, STENLID (154) manifeste une grande circonspection en ce qui concerne une corrélation possible entre leur action sur l'enzyme et les phénomènes de croissance.

Même si ZENK et MULLER (173) ne donnent pas leur adhésion totale au concept voulant que les synergistes et inhibiteurs phénoliques de la croissance agissent en inhibant ou en activant l' AIA-O, la tendance des auteurs à avoir recours à ce genre d'explication demeure très générale (127) (161) quoiqu'il soit de plus en plus proposé de la nuancer (7) (8) (69) . En plus d'activer l' AIA-O, les inhibiteurs de croissance ont probablement une action en rapport avec le métabolisme glucidique et respiratoire .

Pour TOMASZEWSKI et THIMANN (162) en tout cas l'explication de l'action synergique des polyphénols ne fait pas de doute . Elle repose du reste sur des expériences de croissance et de dosage de l'AIA mettant à profit l'emploi de molécules d'AIA marquées au Carbone 14 .

Il est intéressant de noter avec NOVACKY et MACKO (110) que certaines maladies à champignons dont le principal symptôme est une hypertrophie du végétal peuvent s'expliquer par une augmentation des substances phénoliques inhibitrices de l'AIA-O .

Cette brève revue bibliographique nous aura permis de constater que si d'une part plusieurs auteurs reconnaissent dans l'inhibition de l' AIA-O l'élément causal d'une croissance végétale potentialisée, très peu d'entre eux ont vérifié en une expérience unique le lien entre les deux constatations . Aussi nous a-t-il paru intéressant de réaliser avec le leucocyanidol cette double expérimentation, afin de voir quel est d'abord l'effet du produit sur la croissance et en second lieu son comportement dans la dégradation enzymatique de l' AIA .

3) Mécanisme d'Action des Inhibiteurs de l' AIA-O :

Le caractère sommaire et par surcroît mobile des connaissances de la chimie de l'enzyme (AIA-O) devient à coup sûr facteur limitant pour qui veut élucider le phénomène d'inhibition de l'auxine-oxydase . Néanmoins déjà quelques travaux ont permis d'élaborer certaines hypothèses dont nous envisageons ici une courte rétrospective .

Le blocage des systèmes enzymatiques par les substances phénoliques, flavonoïdes (13) ou autres (152), est très largement répandu et il n'est pas exclu qu'un même mécanisme puisse expliquer l'inhibition de divers enzymes .

Pour plusieurs auteurs, l'inhibition de l'AIA-O par les polyphénols est compétitive . GASPAR (40) (41) suggère en effet qu'étant donné que les polyphénols sont des substrats péroxydasiques, ils peuvent réduire l'oxydation de l'AIA en éliminant H_2O_2 du système durant leur propre oxydation peroxydasique . Cette conception est en désaccord avec les conclusions de RAY (138) dont les résultats suggèrent plutôt qu'en présence de deux substrats (AIA et inhibiteur phénolique) une forme inactive de l'enzyme incapable d'oxyder l'un ou l'autre d'entre-eux s'accumule . Selon cet auteur, l'inhibition de l' AIA-O par les polyphénols implique une réaction faisant appel à un radical libre aboutissant à la formation d'une péroxydase ferreuse . Les polyphénols sont en effet connus comme antioxydants dans les réactions à radicaux libres .

Du reste pour GASPAR et PILET (46) , l'oxydation de l'AIA comporte une séquence de radicaux libres commandés par l'enzyme . Selon ces mêmes auteurs les inhibiteurs de l'AIA-O pourraient agir comme chélateurs de ces radicaux libres, bloquant de la sorte des réactions intermédiaires .

A la suite de LEOPOLD et PLUMMER (81) , BASTIN (6) et GASPAR , BASTIN et LEYH (44) mettent en évidence la capacité de l'auxine de former in vitro des complexes avec les polyphénols . Ils ne succombent toutefois pas à la tentation de supposer que l'inhibition de l' AIA-O est réalisée par complexation de l' AIA avec un radical phénolé, complexe qui ne serait pas attaqué par l'enzyme . En effet, quoique séduisante , une telle hypothèse n'apparaît guère vérifiable étant donné les concentrations en AIA (2.10^{-4}M) et en composé phénolique (5.10^{-6}M) mises en présence dans les mélanges auxines-oxydasiques . Dans ces mélanges d'ailleurs tout l' AIA est révélé colorimétriquement au temps zéro(40).

S'appuyant sur l'inhibition de l' α - amylase par les tanins (36) due à la formation d'un complexe enzyme-tanins insoluble, KAMINSKI (67) suggère un mécanisme analogue pour expliquer l'inhibition de l'AIA-O par les polyphénols (tanins) .

Plusieurs flavonoïdes forment des complexes avec les métaux (cuivre par exemple) . Cette propriété est de nature à influencer de façon inhibitrice les réactions enzymatiques (153) . L' EDTA lui-même, agent chélateur bien connu, inhibe quoique légèrement l'activité auxines-oxydasique (14) . MASQUELIER (86) (87) a du reste précisé dès 1951 que le leucocyanidol, grâce à son pouvoir chélatant des ions Cu^{++} , inactive l'acide ascorbique-oxydase . L'affinité du produit pour les ions métalliques ne se limite pas aux ions Cu^{++} . Ne serait-il pas logique de penser que le blocage de l' AIA-O par les polyphénols soit en fait une manifestation de leur pouvoir chélatant ?

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DU LEUCOCYANIDOL

Avant de passer à l'examen des phénomènes que nous nous proposons d'étudier, il nous a paru intéressant d'inclure ici quelques notions concernant le leucocyanidol, molécule particulièrement réactive, qui fut à la base de la plupart de nos essais .

A) REPARTITION BOTANIQUE :

La phytochimie est largement redevable à BATE-SMITH (10) (11) pour l'identification des leucoanthocyannes. Cet auteur se livre en effet à une étude systématique de leur distribution végétale, en confrontant plusieurs centaines d'espèces .

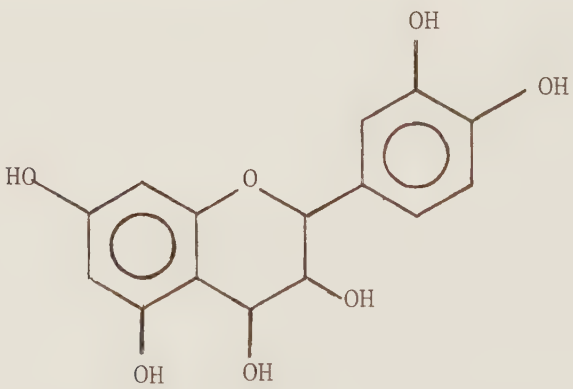
Avec CLAVEAU (21), on peut résumer les conclusions de BATE-SMITH de la façon suivante :

a) Il existe une relation entre la présence de leucoanthocyannes chez une plante et sa position dans la systématique . En général les Bryophytes et les Lycopodinées n'en contiennent pas . Au contraire, on note leur présence chez les Filicinées et les Gymnospermes (Conifères principalement) .

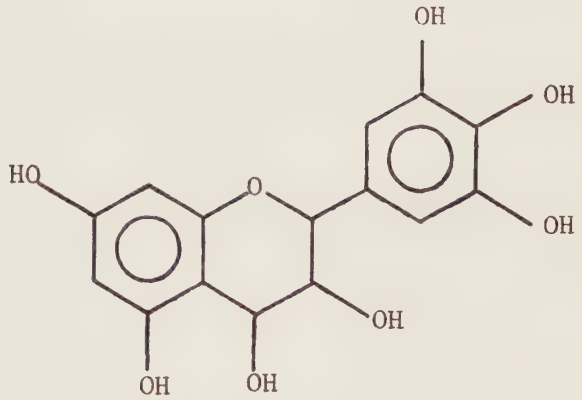
b) Parmi les Angiospermes, on en retrouve chez 30 % des Monocotylédones . Chez les Dicotylédones, 61 % des espèces ligneuses en renferment comparativement à 15 % des espèces herbacées .

c) Ce sont surtout les familles botaniques peu évoluées, à caractère primitif, qui renferment des leucoanthocyannes .

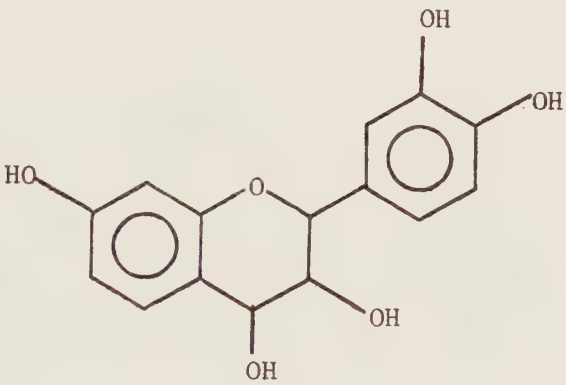
De toutes les leucoanthocyannes rencontrées dans la nature, le leucocyanidol (5, 7, 3', 4'-tétrahydroxyflavanne-3, 4-di-ol) bénéficie de la distribution la plus générale . On retrouve également : le leucodelphinidol (5, 7, 3', 4', 5'-pentahydroxy-), le leucofisétinidol (7, 3', 4' - trihydroxy -), la mélacacidine (7, 8, 3', 4'-tétrahydroxy-), le leucopélargonidol (5, 7, 4'-trihydroxy-) et autres .



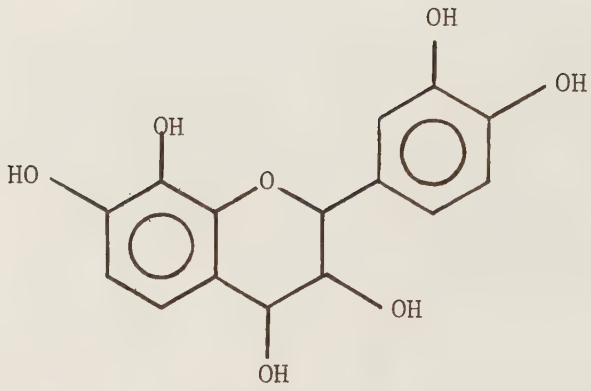
Leucocyanidol



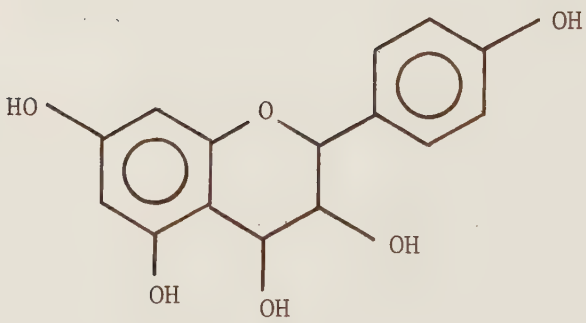
Leucodelphinidol



Leucofisétinidol



Mélacacidine



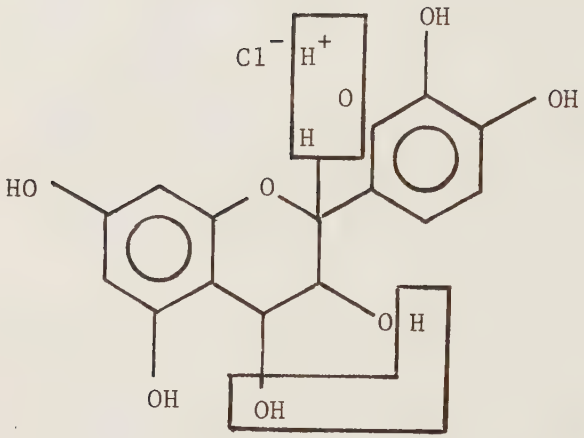
Leucopélargonidol

Etant donné la teneur nettement supérieure en leucoanthocyannes des espèces ligneuses par rapport aux plantes herbacées, certains auteurs croient en une intervention possible de ces substances dans les processus de lignification. Toutefois comme la lignine comporte plusieurs groupements "méthoxy", ce qui n'est pas le cas des leucoanthocyannes, le doute persiste. Néanmoins on peut envisager que les substitutions se font dans les derniers stades de la formation de la lignine.

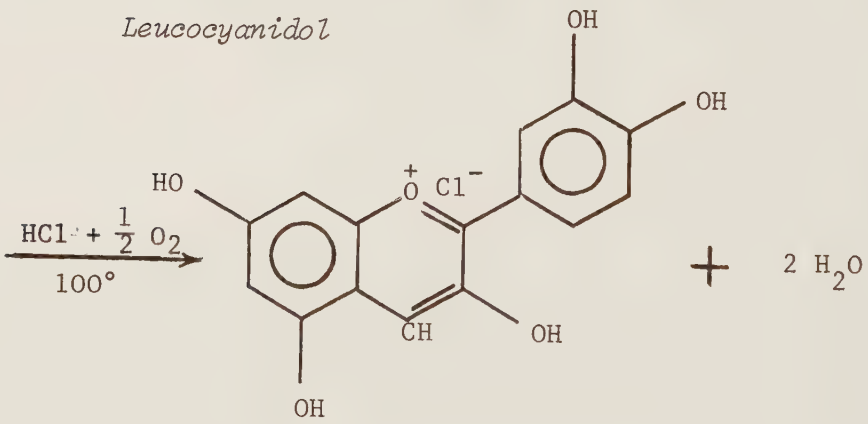
Quoi qu'il en soit, les leucoanthocyannes figurent parmi les constituants les plus répandus du monde végétal. En général, elles se retrouvent plus abondamment dans les écorces, les épicarpes, les cuticules et les tissus ligneux. Et nous l'avons déjà mentionné, le Pin renferme du leucocyanidol dans chacun de ses organes.

B) NATURE CHIMIQUE : (21)

On nomme "leucoanthocyannes" l'ensemble des composés polyhydroxylés du flavanne qui par chauffage en milieu acide se transforment en pigments anthocyanniques. Il se produit une intense coloration rouge qui correspond à la formation du cation flavylium.

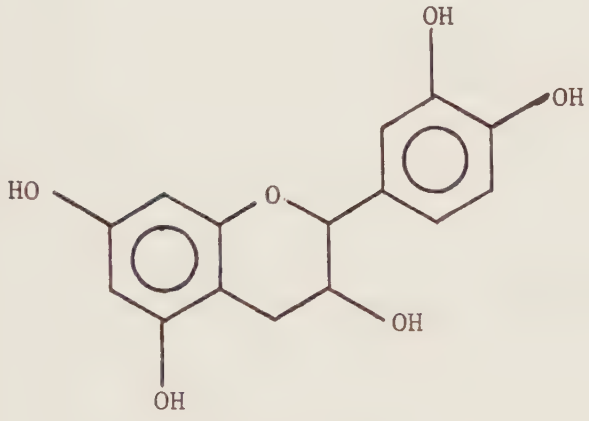


Leucocyanidol

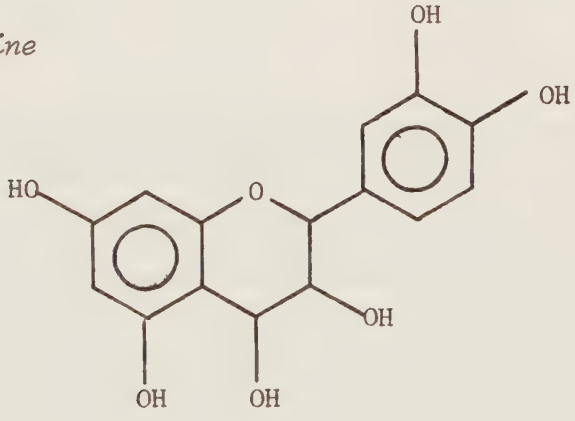


Chlorure de Cyanidol

Cette structure , en vertu de laquelle le leucocyanidol est le 5,7,3',4'-tétrahydroxy-flavanne-3,4-di-ol , en fait un très proche parent de la catéchine, qui elle, ne possède pas d'hydroxyle en position 4 . Cette différence minime n'en détermine pas moins une forte individualité physico-chimique, dont la physiologie semble toutefois se moquer jusqu'à un certain point, puisque catéchines et leucoanthocyannes se rejoignent sous cet aspect .



Catéchine



Leucocyanidol

La chimie des leucoanthocyannes a trouvé en ROSENHEIM et ROBINSON des collaborateurs précieux. A ce dernier auteur revient le mérite d'avoir pu expliquer la conversion des leucodérivés en anthocyannes. Toutefois en dépit de ses nombreux et judicieux travaux, ROBINSON croit impossible l'isolement des chromogènes à l'état pur.

En revanche, dès 1947, TAYEAU et MASQUELIER (85) (158) infirment ces conclusions pessimistes en isolant à l'état pur la leucoanthocyanne du tégument séminal de l'Arachide. Cette découverte allait changer l'optique des recherches poursuivies jusqu'alors, lesquelles considéraient que ces substances ne pouvaient être étudiées qu'en fonction de leur transformation en pigments anthocyanniques. Or il n'est pas rare de rencontrer des végétaux pourvus de leucoanthocyannes, sans qu'ils renferment d'anthocyannes proprement dits. C'est le cas, entre autres, de l'Arachide (85) et du Pin maritime, comme le préciseront plus tard MASQUELIER et SANSOUS (91).

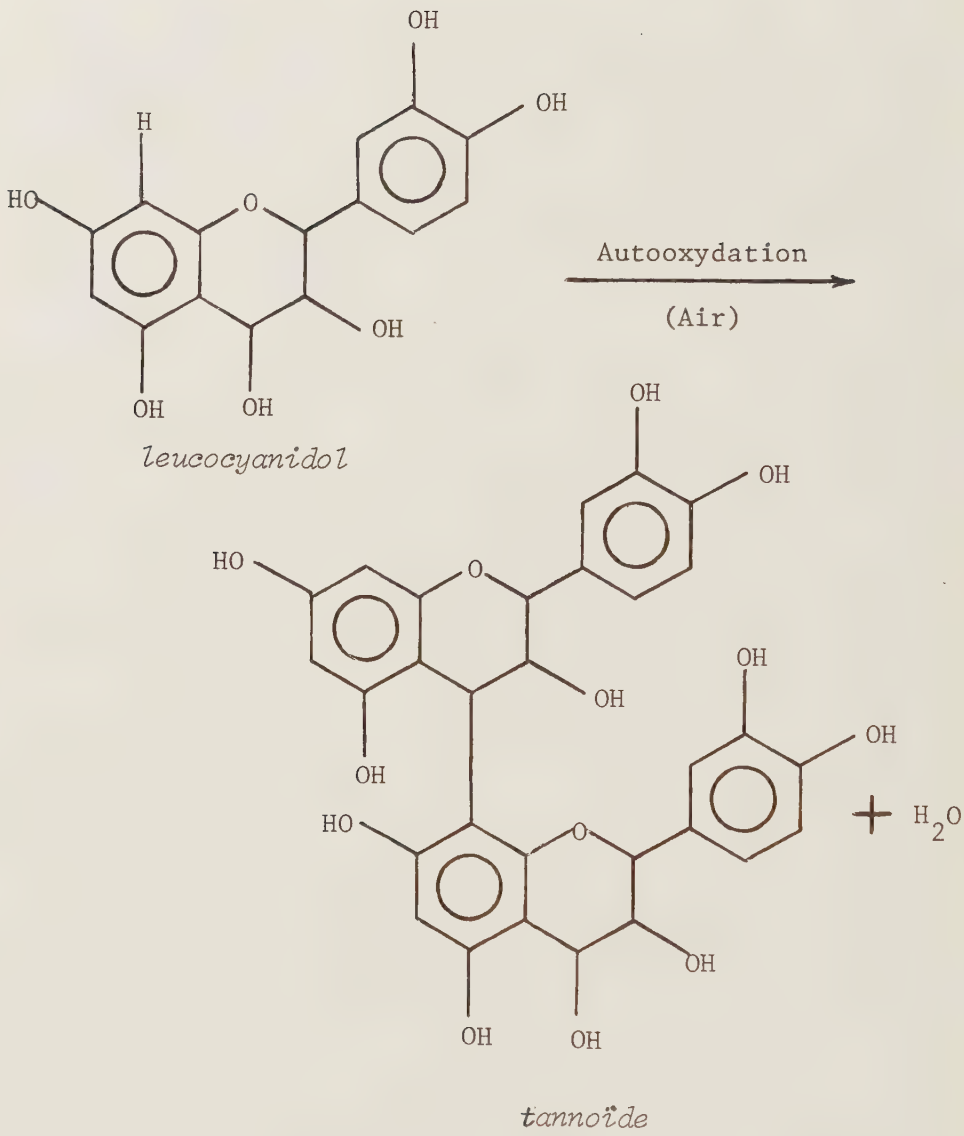
Divers Etats de Condensation :

Pourquoi ne voit-on pas s'instaurer de pigmentogénèse chez ces plantes pourtant riches en chromogènes ? Il est évidemment possible d'expliquer cette anomalie sur la base d'une carence en certains enzymes responsables de la biogénèse des pigments. En revanche une telle hypothèse n'exclue pas la possibilité pour les chromogènes de préférer la transformation en des molécules différentes des anthocyannes.

TAYEAU et MASQUELIER remarquent précisément qu'une solution aqueuse de la leucoanthocyanne de l'Arachide, abandonnée à l'air, laisse apparaître en quelques jours un sédiment rouge brunâtre insoluble . Ce dépôt correspond à un phlobaphène (forme hautement polymérisée du chromogène) .

D'autre part, si le chromogène a été initialement dissous dans une solution saturée de NaCl, l'apparition d'un précipité s'opère en quelques heures seulement . Ce sédiment par ailleurs soluble dans l'eau non salée est homologué aux tannoïdes catéchiques . Aussi MASQUELIER (88) ne tarde-t-il pas à proposer la substitution du terme "leucotannoïde", physiologiquement plus exact, à celui de "leucoanthocyanne" . En réalité, celui-ci s'appuie sur une transformation chimique dont la brutalité exclue une incidence naturelle au sein de la cellule végétale vivante, quoiqu'on puisse théoriquement admettre l'intervention d'enzymes aboutissant au même résultat .

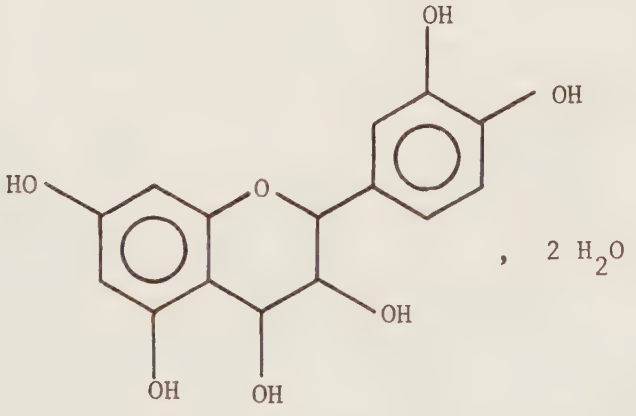
La transformation du leucocyanidol en tannoïde résulte d'une oxydation (air) qui intéresse l'hydroxyle du carbone 4, susceptible de réagir avec l'hydrogène d'un carbone 6 ou 8 d'une seconde molécule . Cette structure peut donner lieu à une nouvelle condensation, car elle possède encore un OH libre en position 4 . La présence de réducteurs s'oppose à cette conversion .



Ainsi donc, les leucoanthocyannes, ou mieux " leucotannoïdes", fonctionnent in vivo comme les précurseurs des tanins condensés .

C) MODE D'EXTRACTION :

On épuise par l' eau bouillante l'écorce de Pinus maritima réduite en poudre : leucoanthocyanne (chromogène) et tanin catéchique (tannoïde) passent en solution . On filtre et l'on sature le filtrat avec du NaCl . Un précipité qui correspond au tannoïde se forme . On l'élimine par centrifugation et le surnageant est extrait par l'acétate d'éthyle . Après avoir déshydraté la phase organique avec du Na_2SO_4, on y ajoute un excès de chloroforme. Les flocons de leucocyanidol qui se forment sont encore impurs; on les redissout dans l'acétate d'éthyle et une nouvelle précipitation par le chloroforme permet d'obtenir un produit convenant aux essais : tétrahydroxy-5, 7, 3', 4'-flavanne-3, 4-diol ou $C_{15}H_{14}O_7$, $2\ H_2O$ de P. M. 342.

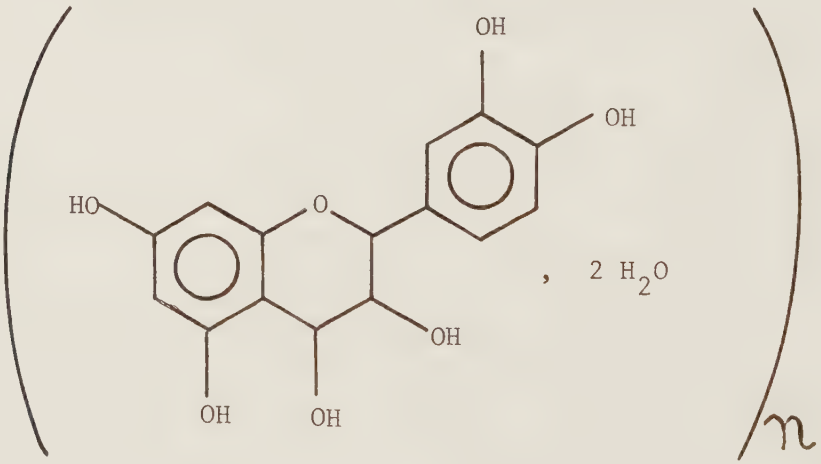


, $2\ H_2O$

D) SYNTHESE DU PROCYANIDOL (LEUCOCYANIDOL MONOMERE) : (96)

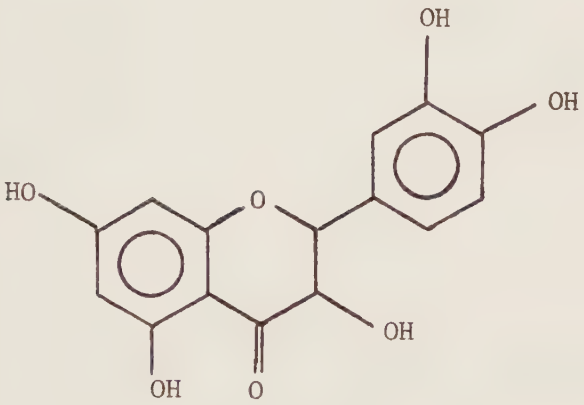
La représentation graphique utilisée jusqu'à présent pour désigner le chromogène comporte en fait une atteinte à la réalité . Il est entendu que le produit ainsi obtenu se trouve dans un certain degré de polymérisation et on admet qu'il résulte d'un mélange réunissant différents polymères (inférieurs).

Dans cette perspective, il faudrait pour respecter la vérité, inclure la formule entre parenthèses et l'affecter de l'exposant "n" .

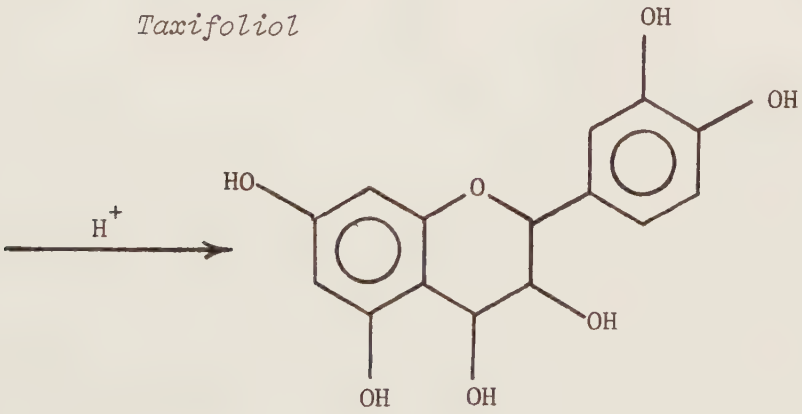


Il serait incontestablement intéressant d'étudier le leucocyanidol sous sa forme monomère et cristallisée . Or l'analyste voit ses efforts limités par cette polymérisation plus ou moins grande, lors de l'extraction des produits végétaux. Il lui faut donc s'orienter du côté de la synthèse chimique, laquelle doit faire face à des difficultés importantes .

La réduction des flavanonols se présente comme la voie la plus directe pour l'obtention des flavanne-diols . Ainsi est-il théoriquement admis que la réduction du taxifoliol (5 , 7, 3', 4'- flavanone -4-ol-3) conduit au leucocyanidol .



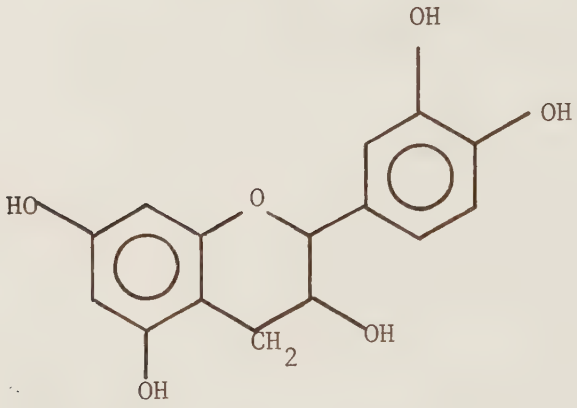
Taxifoliol



Leucocyanidol

Cette réduction met à profit les moyens usuels tels que le borohydrure de Na ou de K, l'hydrure de Li et d'Al ou l'hydrogénation catalytique . Elle est en général facile à réaliser .

En pratique , elle est nettement perturbée par les fonctions hydroxylées des noyaux latéraux . C'est ainsi qu'en raison d'une liaison hydrogène entre l'hydroxyle en 5 et la carbonyle en 4, il faut agir plus énergiquement, mais alors la réaction dépasse le stade désiré et se termine par l'obtention de catéchines (flavanols-3) .



Catéchine

De plus la présence concomitante de deux hydroxyles en positions 5 et 7, augmente la réactivité des hydrogènes en 6 et en 8, d'où une tendance accentuée à la polymérisation . Ce phénomène implique la fonction hydroxyle en 4 et l'hydrogène en 6 ou en 8 d'une autre molécule .

D'autre part, l'utilisation de borohydrures comme agents de réduction conduit à la formation de complexes entre le bore et les fonctions hydroxylées . Il faut pour détruire ces complexes un milieu acide, susceptible, on le sait, de déclencher ainsi la polymérisation . Comment sortir de ce cercle vicieux ?

Il est bien sûr possible de réaliser la synthèse lorsque les fonctions gênantes ne font pas partie de la molécule . On obtient ainsi certaines flavanne-3,4-diols mais pas de leucocyanidol . Ce dernier peut néanmoins être obtenu en réduisant le pentaacétyltaxifoliol par l'hydrure de lithium et d'aluminium . La réduction s'accompagne même de la saponification des fonctions esters .

Toutefois MICHAUD et MASQUELIER (96) réussissaient récemment à décomposer le complexe boré sans provoquer la polymérisation . Les auteurs obtiennent le leucocyanidol monomère en réduisant directement le taxifoliol . Le procédé s'accompagne d'un rendement d'environ 50% et il est général .

Le taxifoliol est réduit en solution méthanolique glacée par le borohydrure de sodium . Le mélange réactionnel est évaporé sous pression réduite et acidifié (CH_3COOH) . Le résidu est repris par une solution saturée de chlorure de sodium . Le leucocyanidol en est facilement extrait par l'acétate d'éthyle et on le fait cristalliser sous forme d'aiguilles incolores, par addition de chloroforme en excès . La cristallisation impliquant deux molécules d'eau par molécule de leucocyanidol, on comprend que les solvants doivent être quelque peu humides .

E) ETUDE DU SPECTRE ULTRA-VIOLET :

1) Spectre Normal :

La détermination du spectre U. V. du leucocyanidol se fait en milieu alcoolique (96%). Elle révèle un maximum d'absorption caractéristique à la longueur d'onde de 280 mμ .

2) Modification du Spectre par les Métaux Lourds :

TECHNIQUE :

Les déterminations sont faites à l'aide d'un spectrophotomètre U. V. enregistreur UNICAM S. P. 800, en utilisant des solutions extemporanées de leucocyanidol à la concentration de 2×10^{-4}M dans l'alcool. Les métaux (fer, cuivre et manganèse) y sont ajoutés sous forme de sels alcoolo-solubles dans une proportion 2 : 1 par rapport au polyphénol (donc 4×10^{-4}M). Ces sels métalliques n'absorbent pas les rayons U. V. aux concentrations utilisées .

RESULTATS :

a) Manganèse :

La figure 1 nous montre que le manganèse (sulfate) ne modifie pas sensiblement la courbe spectrale du leucocyanidol. L'enregistrement immédiat ne présente qu'une très légère modification par rapport à la courbe

témoin de leucocyanidol . Et après 15 heures, les deux tracés (leucocyanidol témoin et leucocyanidol additionné de manganèse) s'imbriquent très intimement .

b) Cuivre :

Le cuivre (acétate), au contraire, entraîne une profonde modification du spectre U.V. du leucocyanidol . Cette altération importante dès le début, s'accentue avec le temps comme nous le fait voir la figure 2 . Le pic caractéristique de 280 mμ se confond peu à peu avec un plateau plus ou moins net .

c) Fer :

Comme nous le montre la figure 3, le fer (perchlorure ferrique) modifie de façon très prononcée la courbe spectrale du leucocyanidol . Pour un rapport 1 : 1 (leucocyanidol : fer) le pic de 280 mμ est conservé mais l'absorption est nettement plus marquée . En présence d'une proportion 1 : 2 , la courbe dépasse les limites de l'enregistrement . Si on laisse en contact pendant trois jours (figure 4), la courbe se dégrade et présente un affaissement léger mais de plus en plus marqué, vers la lumière visible .

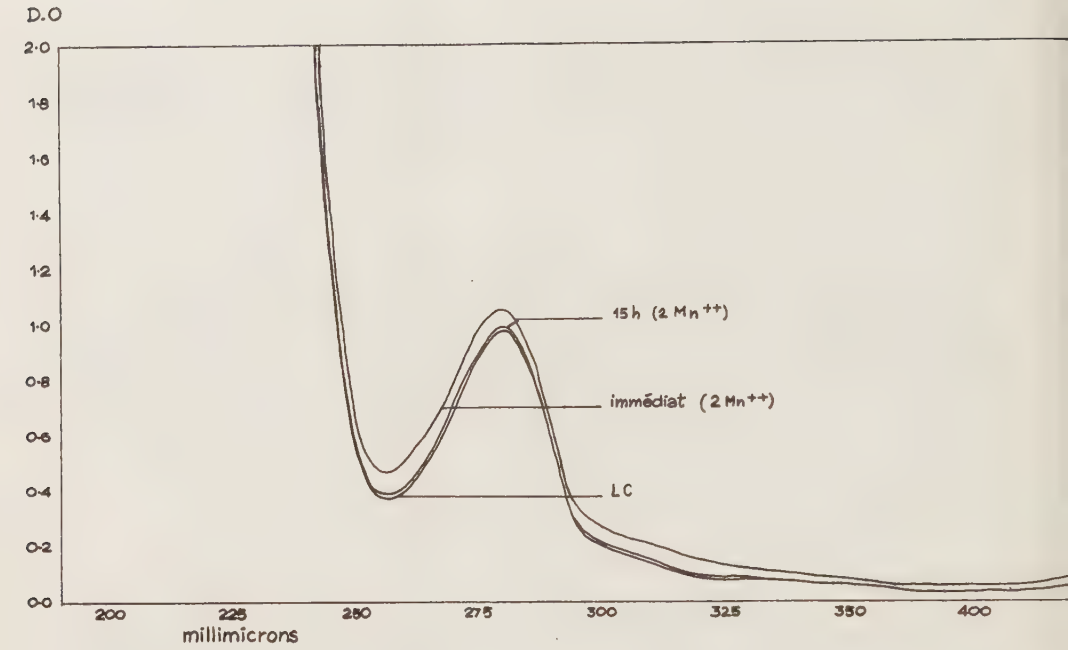


FIGURE 1 - Spectre U.V. du leucocyanidol seul (LC) et après addition de 2 Mn^{++}. Enregistrement immédiat et après 15 heures. Milieu alcoolique ($MnSO_4$, H_2O).

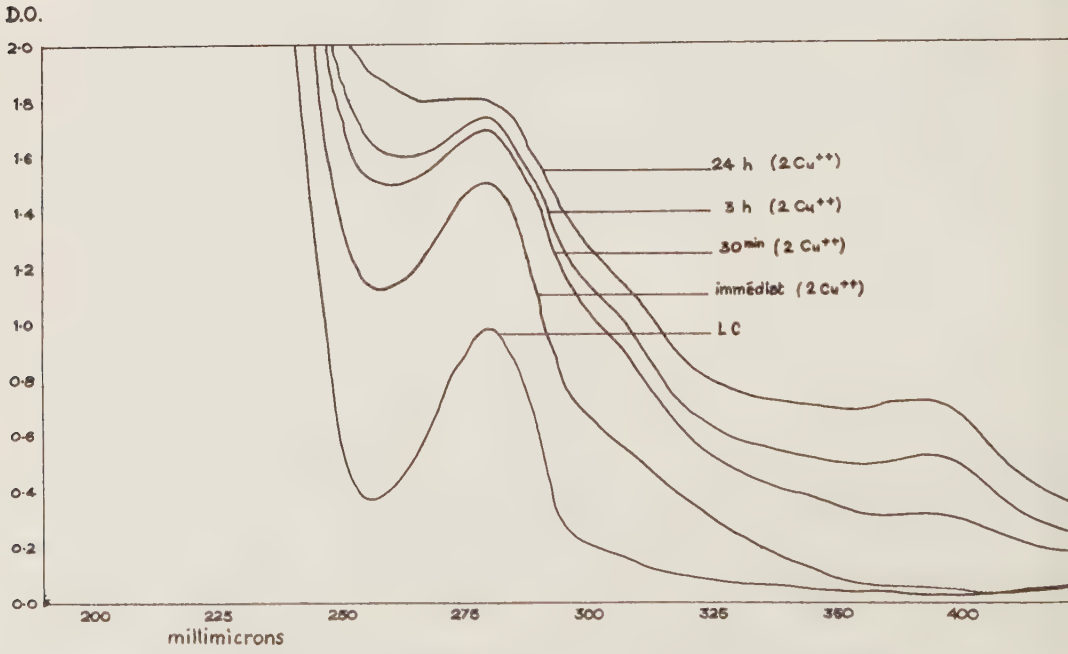


FIGURE 2 - Spectre U.V. du leucocyanidol seul (LC) et après addition de 2 Cu^{++}. Enregistrement immédiat et après 30 minutes, 3 heures et 24 heures. Milieu alcoolique ($Cu(CH_3COO)_2$, H_2O).

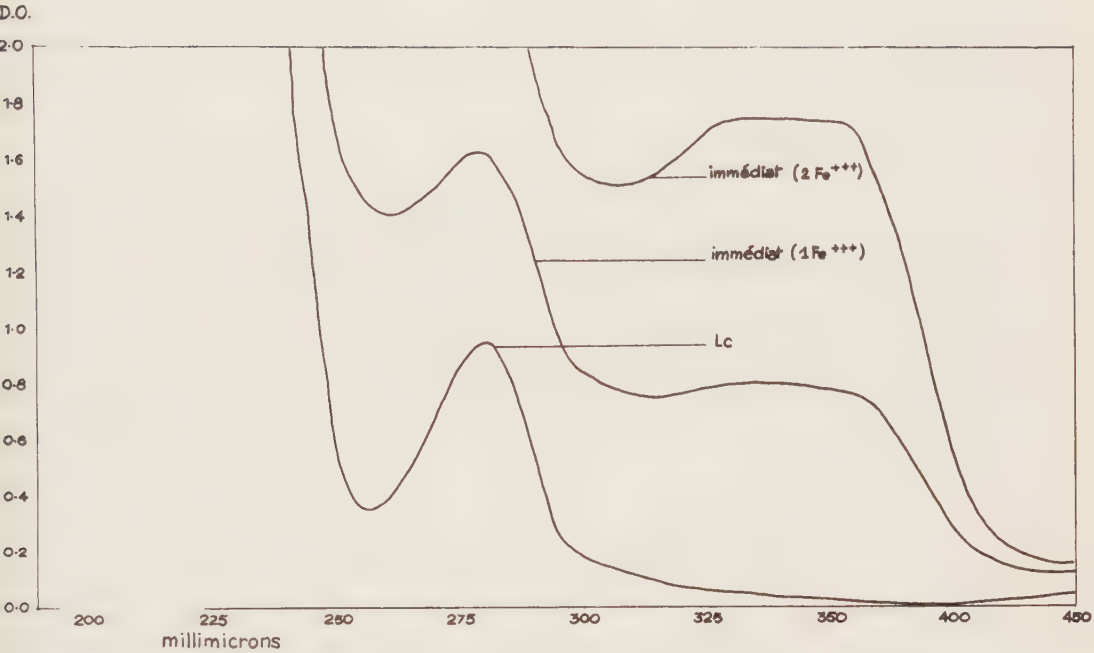


FIGURE 3 - Spectre U.V. du leucocyanidol seul (LC) et après addition de 1 et 2 Fe^{+++}. Enregistrement immédiat. Milieu alcoolique ($FeCl_3$).

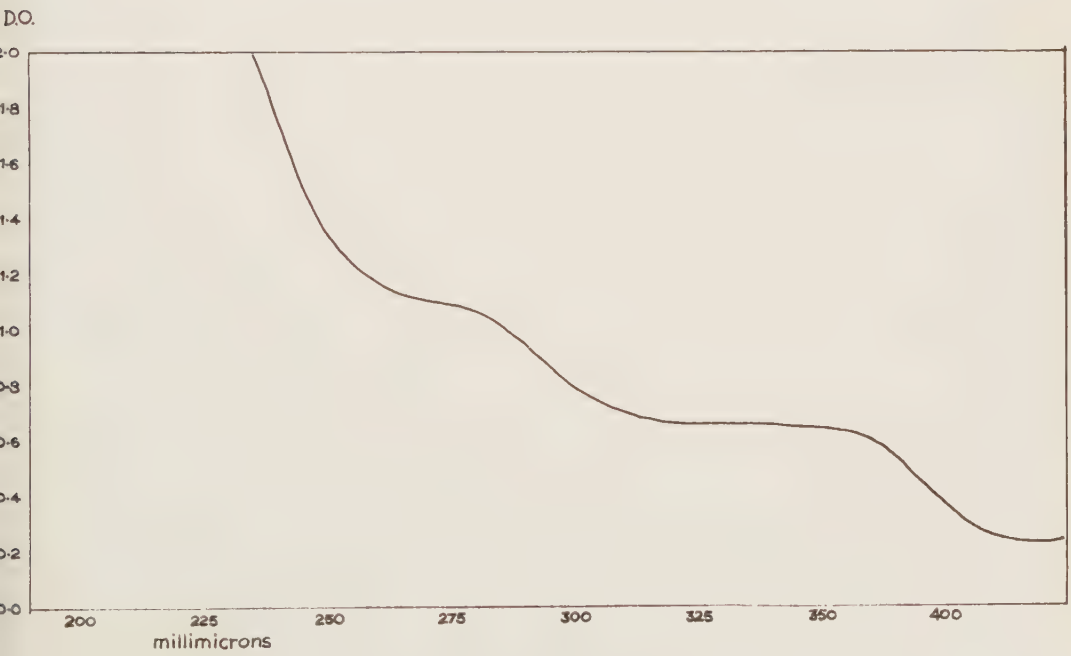


FIGURE 4 - Spectre U.V. du leucocyanidol en présence de 2 Fe^{+++} après 3 jours. Milieu alcoolique ($FeCl_3$).

3) Conclusions :

A la lumière des importantes modifications spectrales obtenues avec le fer et le cuivre, il est logique de penser que ces cations ont une affinité notoire pour le leucocyanidol. Celle-ci se manifeste très nettement en milieu alcoolique. Au contraire, le manganèse lui semble parfaitement indifférent et il est impossible de conclure à une affinité entre le métal et le polyphénol.

TROISIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES

CHAPITRE I

EFFETS SUR LA GERMINATION

°°°

Il n'existe pas de technique spéciale pour mesurer les effets des activateurs et des inhibiteurs de la germination. En général chaque auteur utilise ses propres expériences "maison", qui se résument à apprécier le phénomène germinatif soit en dénombrant la quantité de graines germées, soit en mesurant une fois le processus amorcé, la longueur des tiges ou des racines. Bien souvent du reste, ils associent ces deux types de résultats. Dans l'ensemble, les techniques employées sont plutôt simples.

Sans avoir la présomption d'innover dans ce domaine, nous avons conduit notre expérimentation à la fois sur milieux artificiels, plus commodes, de réalisation plus aisée, et sur milieux naturels davantage proches de la réalité.

SECTION A) ACTION DES PLANTES EXCLUSIVES :

1) CISTACEES :

a) Action des Extraits Aqueux de Cistes :

TECHNIQUES :

α -Tests de Germination :

- Les graines sont mises à macérer pendant 24 heures à l'obscurité dans les solutions à étudier, en tubes à essai à la température de la chambre . Les témoins sont réalisés avec de l'eau distillée . Après 24 heures, on transplante dans des boîtes de Pétri contenant des papiers filtres sans cendre . On laisse développer à l'obscurité autant de jours qu'on veut poursuivre les mesures .

- Comme modification à la technique précédente, il est possible d'éliminer la macération de 24 heures et d'ensemencer directement en boîtes de Pétri sur papier filtre sans cendre . L'imbibition, première étape de la germination, y est tout aussi possible .

β-Préparation de la Solution-Mère de Cistes (Extrait Aqueux) :

Les feuilles de Cistes sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur mécanique . On épuise avec de l'eau distillée pendant une heure à froid (1 gramme de poudre du végétal pour 99 grammes d'eau distillée) . On centrifuge et on filtre le surnageant sur verre fritté . On obtient ainsi une solution-mère au 1/100 .

RESULTATS :

L'extrait aqueux à 1 % de feuilles de Cistes (Cistus Monspellieticus) manifeste, comme en fait foi le tableau 1, une assez nette inhibition (voisine de 40 % le 6ème jour) vis-à-vis des graines de Blé, de Colza et de Moutarde blanche .

Les extraits d'autres espèces de Cistes (C. ciunitus, C. laurifolius, C. albidus, C. polymorphus, C. heterophyllus) sont sensiblement doués de la même activité.

	2 jours		4 jours		5 jours		6 jours	
	Témoins	*Traités*	*Témoins*	*Traités*	*Témoins*	*Traités*	*Témoins*	*Traités*
Blé	62	9	80	31	87	49	100	62
Colza	50	5	61	18	82	35	94	54
Moutarde blanche	54	8	63	23	83	41	96	57

Tableau 1 : Action d'un extrait aqueux à 1 % de feuilles de Cistus Monspellieticus, sur la germination des graines de Blé, de Colza et de Moutarde blanche, en % de graines germées après 2, 4, 5 et 6 jours . Macération préalable de 24 heures . Milieu artificiel .

b) Effet de la Chaleur sur l'Activité de l'Extrait Aqueux de Cistes :

Il serait intéressant de voir si l'extrait conserve ses propriétés inhibitrices une fois exposé à la chaleur . En d'autres termes, l'agent responsable est-il thermostable ?

TECHNIQUE :

L'essai de thermorésistance s'effectue sur 2 grammes de poudre de feuilles de Cistes qu'on place à l'étuve pendant 1/2 heure à 120° . L'activité de cette poudre dont on prépare un extrait aqueux, selon la technique décrite plus haut, est ensuite évaluée sur le pouvoir germinatif des graines .

RESULTATS :

Ils montrent que la chaleur est sans effet sur l'activité inhibitrice de la germination des Cistes, car comme dans le cas précédent, le taux d'inhibition voisine les 40% le 6ème jour de l'expérience (tableau 2)

Un traitement à la chaleur humide (autoclave à 120°) pendant 20 minutes , conserve également l'activité. On note en revanche une accentuation de la coloration, ce qui laisse supposer une transformation chimique .

	2 jours		4 jours		5 jours		6 jours	
	Témoins	*Traités*	*Témoins*	*Traités*	*Témoins*	*Traités*	*Témoins*	*Traités*
Blé	63	7	80	28	91	44	95	59
Colza	52	5	58	22	80	37	88	55
Moutarde blanche	55	5	62	26	79	40	90	59

Tableau 2 : Action d'un extrait aqueux à 1 % de poudre de feuilles de Cistus Monspellieticus chauffé à l'étuve, sur la germination des graines de Blé, de Colza et de Moutarde blanche, en % de graines germées, après 2, 4, 5 et 6 jours . Macération préalable de 24 heures. Milieu artificiel .

c) Effets sur la Croissance des Racines une fois la Germination Amorcée Librement :

Le phénomène constaté est-il spécifique de la germination elle-même, ou, au contraire, affecte-t-il également la croissance des racines ?

TECHNIQUE :

On laisse démarrer la germination, après quoi se fait l'addition de la substance active (extrait aqueux de Cistes) le 3ème jour .

RESULTATS :

La croissance des organes jusqu'alors libre est par la suite nettement freinée par rapport aux témoins . Les racines de Blé sont inhibées de façon importante mais, vers le 7ème jour, l'inhibition est surmontée .

d) Actions Comparées de la Poudre de Cistes et de la Colchicine :

Le pouvoir antigerminatif de la colchicine donne lieu à des effets dramatiques, à des concentrations infimes . Afin de jauger la capacité inhibitrice des Cistes, en rapport avec un composé reconnu extrêmement actif, nous avons confronté les deux agents .

RESULTATS :

Compte tenu de l'extrême dilution supposée du produit actif des feuilles de Cistes, les résultats obtenus nous montrent qu'à la concentration de 5% de poudre de Cistes,le pouvoir inhibiteur est situé environ à mi-chemin, entre l'activité d'une concentration de colchicine à 1/10.000 et à 1/100.000 (tableau 3) .

	% de Germination après 6 jours
Témoin	100
Cistes 1 %	61
Cistes 5 %	18
Colchicine 1/10.000	0
Colchicine 1/100.000	37

Tableau 3 : Action comparée de la colchicine et des extraits aqueux de Cistes sur la germination des graines de Blé . Macération préalable de 24 heures . Milieu artificiel .

e) Préparation d'un Extrait Fluide Concentré à 50% :

De façon à obtenir une solution de poudre de Cistes de teneur supérieure en principe actif, nous avons préparé un extrait mettant en œuvre 50 % de poudre de feuilles .

TECHNIQUE :

On délipide 10 grammes de poudre de Cistes à l'hexane, au moyen de l'appareil à extraction continue "SOXHLET" pendant 6 heures . Après avoir fait sécher la poudre partiellement délipidée pendant une nuit et l'avoir réarrangée au mortier, on recommence l'opération pendant 6 heures et on sèche à nouveau pendant une nuit . La poudre séchée est extraite à l'alcool pendant 3 heures au Soxhlet . On distille ensuite la teinture alcoolique sous pression réduite (Eral), et on reprend l'extrait sec par de l'eau distillée (20ml pour 10 grammes de poudre à l'origine), ce qui fournit un extrait fluide correspondant à 50% de la poudre de Cistes de départ .

f) Action de l' Extrait à 50% et de ses Différentes Dilutions :

L'activité antigerminative de l'extrait est évaluée sur les graines de Blé . Après 6 jours les concentrations de 25% et 50% se montrent toujours totalement inhibitrices, et cette activité est conservée en partie jusqu'à la teneur de 0,5% pendant 6 jours . Aux concentrations inférieures (0,25, 0,125 et 0,1%), il ne se manifeste aucune inhibition (Tableau 4).

	3 jours	*4 jours*	*6 jours*
Témoin (H_2O distillée)	76	84	100
Extrait de Cistes à 50 %	0	0	0
" " " " 25 %	0	0	0
" " " " 12,5 %	4	11	18
" " " " 5 %	10	17	30
" " " " 2,5 %	13	22	45
" " " " 1 %	18	33	62
" " " " 0,5 %	59	75	87
" " " " 0,25 %	73	83	98
" " " " 0,125 %	80	85	100
" " " " 0,1 %	78	83	99

Tableau 4 : Action de différentes concentrations de solutions de Cistes sur la Germination du Blé en % de graines germées . Macération préalable de 24 heures. Milieu artificiel .

Il nous a paru intéressant de noter que chez les graines qui réussissent à germer et à se développer, les racines utilisent assez généralement un mécanisme de défense vis-à-vis de l'agent . Il consiste à s'éloigner de leur support lorsqu'elles ont atteint une longueur suffisante, soutenant ainsi la graine le plus haut et le plus loin possible au-dessus du milieu .

Notons aussi que le résidu de l'extraction alcoolique conserve une partie de son activité, qu'il libère dans un second extrait aqueux .

g) Influence du pH :

Un glissement du pH vers une zone moins physiologique ne peut expliquer l'action inhibitrice des Cistes . En effet, des essais pratiqués en ramenant le pH à 7 environ (et filtration), montrent que l'inhibition persiste en milieu neutre .

2) PIN MARITIME :

Nous avons mentionné plus haut l' "exclusivisme" de nombreux végétaux . A ce titre les Conifères, dont les sous-bois abritent une végétation modeste, fournissent un excellent exemple . C'est pourquoi nous avons pensé qu'il était intéressant de vérifier le comportement du Pin sur la germination des graines .

A cet effet nous avons utilisé des milieux dits "naturels", préférant le sable au papier filtre . Le sable de Fontainebleau (Prolabo) lavé aux acides doit être relavé à fond car le produit commercial contient de fortes traces d'acidité qui s'opposent nettement à la germination "per se" et conséquemment, faussent les résultats .

TECHNIQUE :

Les aiguilles de Pinus maritima Lamk . bien séchées sont pulvérisées à l'aide d'un broyeur mécanique et incorporées au sable le plus uniformément possible, au mortier . Une légère humidification du sable facilite l'opération . Les concentrations sont exprimées en volumes.

RESULTATS :

Les expériences effectuées montrent que les aiguilles de Pin dans un rapport de 25 % v/v manifestent un pouvoir inhibiteur d'environ 70 %, et ceci au bout de 7 jours . A 50 % v/v l'inhibition voisine les 85 % au bout de 7 jours et les 75 % après 9 jours (tableau 5) .

	3 jours	*4 jours*	*6 jours*	*7 jours*	*8 jours*	*9 jours*
Témoin (sable lavé)	66	78	83	91	100	100
Sable + aiguilles de Pin 10 %	33	42	66	84	100	100
Sable + aiguilles de Pin 25 %	8	17	18	25	27	28
Sable + aiguilles de Pin 50 %	0	9	10	13	24	25

Tableau 5 : Action des aiguilles de Pin maritime sur la germination du Blé, en % de graines germées. Milieu naturel (Sable de Fontainebleau lavé aux acides) .

L'inhibition n'affecte pas que la germination et subséquemment la croissance des racines . Les organes aériens sont également touchés tant par leur nombre, fortement diminué, que par leur taille réduite . C'est ce que tente de résumer le tableau 6 .

	7 jours	*8 jours*	*9 jours*
Témoin (sable)	8,4 cm (10)	11,3 cm (10)	11,7 cm (10)
Sable + aiguilles de Pin 10 %	6,3 cm (5)	9,1 cm (5)	9,3 cm (8)
Sable + aiguilles de Pin 25 %	4,7 cm (2)	6,9 cm (2)	7,5 cm (3)
Sable + aiguilles de Pin 50 %	2,9 cm (1)	4,6 cm (1)	6,0 cm (1)

Tableau 6 : Action des aiguilles de Pin sur la longueur des tiges exprimée en centimètres . Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de sujets se prêtant aux mesures sur des lots de 10 .

Essais Comparatifs entre Deux Sols:

Afin de vérifier l'éventuelle fixation au sol du produit actif, en somme sa persistance, de même que l'épuisement aqueux des aiguilles, nous avons réalisé les essais suivants .

PROTOCOLE :

Un récipient d'environ 150ml est rempli aux trois quarts avec du sable ou de la terre de bruyère . Le quart supérieur, séparé de la partie inférieure par une rondelle de papier filtre, est constitué de poudre d'aiguilles de Pin (1 à 1,5cm) et est également recouvert d'une rondelle de papier filtre, qu'assujettissent des billes de verre .

a) Test de Fixation au Sol :

TECHNIQUE :

On dispose de quatre pots . Deux contiennent du sable (dont un témoin sans aiguilles) et deux de la terre de bruyère (dont un témoin également sans aiguilles) .

Chaque jour pendant deux semaines, on verse le même volume d'eau distillée (25ml) , calculé pour obtenir ainsi un lessivage quotidien .

On récupère les quatre sols, on en retire le cas échéant la poudre d'aiguilles de Pin et on y fait germer les graines de Blé en ajoutant deux témoins supplémentaires contenant la même quantité de poudre de Pin fraîche dispersée dans le sol .

RESULTATS :

Il n'y a pas de fixation de l'agent inhibiteur sur aucun des deux types de sols utilisés . En effet les graines germent et se développent librement commeles témoins sans aiguilles, contrairement aux témoins additionnels avec aiguilles .

b) Test d'Epuisement des Aiguilles en Principe(s) Actif (s) :

TECHNIQUE :

On opère comme précédemment à la différence que la poudre d'aiguilles de Pin est conservée après les deux semaines de lessivage et réincorporée au sol . A ce moment-là, on fait aussi deux témoins supplémentaires avec de la poudre de Pin fraîche dispersée dans les sols .

RESULTATS :

Le lessivage quotidien suffit à priver les aiguilles de Pin de leur activité inhibitrice . En effet les graines de Blé y germent tout aussi aisément que sur les sols témoins sans aiguilles, alors qu'une très nette inhibition se manifeste avec les aiguilles fraîches .

SECTION B) ACTION DU LEUCOCYANIDOL :

1) Mise en Evidence des Leucoanthocyannes chez les Végétaux :

TECHNIQUE :

On chauffe le végétal ou son extrait ou tout autre matériel avec HCl à 10% pendant 2 à 3 minutes . Il apparaît une coloration rouge qui passe en milieu isoamylique.

RESULTATS :

Les Cistes étudiés renferment effectivement des leucoanthocyannes .

Quant au Pin maritime, nous avons déjà signalé qu'il contenait du leucocyanidol dans chacun de ses organes y compris les aiguilles .

2) Action du Leucocyanidol sur la Germination ;

Afin de vérifier si le phénomène d'inhibition ne serait pas attribuable au leucocyanidol, tout au moins chez le Pin, nous avons résolu de soumettre le produit à une expérience de germination . On sait de plus que cette substance est tout à fait hydrosoluble .

RESULTATS :

Les résultats font voir qu'en effet le leucocyanidol manifeste une très nette inhibition de la germination . Chez le Blé, à la concentration de 1 % de leucocyanidol, elle est de 85 % environ le 6ème jour, tandis qu'à 1/500 elle se maintient aux environs de 30 % après la même période (tableau 7) .

Il faut noter que comme dans les cas précédents le phénomène d'inhibition s'estompe graduellement . On sait aussi que le produit lui-même s'altère en solution et se polymérise progressivement en produits insolubles (phlobaphènes) sûrement moins actifs .

	2 jours	*4 jours*	*5 jours*	*6 jours*
Témoin (H_2O distillée)	60	83	87	100
Leucocyanidol 1/100	0	0	6	13
" 1/250	0	0	8	40
" 1/500	0	20	53	66
" 1/1000	0	46	66	93
" 1/5000	20	50	70	95
" 1/10.000	60	66	73	100

Tableau 7 : Action du leucocyanidol sur la germination du Blé, en % de graines germées . Milieu artificiel .

Comme c'était le cas dans chacune des expériences mettant en œuvre les inhibiteurs que nous avons utilisés, les racines ont tendance à se défendre vis-à-vis de l'agent actif en se soulevant pour ne laisser que leurs extrémités en contact avec le milieu. La graine elle-même ainsi supportée par les racines voit sa protection assurée.

3) Action du Leucocyanidol sur la Rhizogénèse (Bouturage du Peuplier) :

TECHNIQUE :

Il est possible de réaliser le bouturage des rameaux de Peuplier en plongeant les tiges dans des tubes de 30ml renfermant la solution à étudier. La tige est retenue par un morceau de caoutchouc mousse qui l'assujettit, tout en bouchant le tube afin de limiter l'évaporation du liquide.

RESULTATS :

Au bout de trois semaines à un mois, on constate que contrairement aux témoins (H_2O distillée) qui ont bouturé, les tiges de Peuplier soumises à une concentration de leucocyanidol voisine de 0,35 % (10^{-2}M) ont vu leur rhizogénèse complètement inhibée. A 10^{-3}M de polyphénol, l'inhibition n'est pas totale mais quand même perceptible.

4) Action des Microorganismes sur le Leucocyanidol :

Quel est le sort du leucocyanidol des aiguilles de Pin dans la nature ? Etant donné le caractère nettement hydrosoluble du produit, il est logique de penser que la

pluie lessive les feuilles du Conifère . Mais on peut aussi se demander si certains microorganismes du sol seraient capables de l'utiliser .

A cet effet nous avons confronté le produit avec un Penicillium isolé de milieux contenant des aiguilles de Pin vertes .

Afin de voir si le leucocyanidol peut servir de source de carbone au champignon, nous l'avons substitué au glucide du milieu CZAPEK liquide, généralement utilisé pour cultiver cet organisme . On laisse développer à 25° .

RESULTATS :

Le tableau 8 nous montre que bien que le leucocyanidol à 1/500 ne s'oppose pas au développement du Penicillium, il ne peut toutefois pas lui servir de source de carbone .

Czapek ordinaire	+
Czapek ordinaire + leucocyanidol 1/500 (100 mg dans 50 ml)	+
Czapek modifié (sans saccharose) + leucocyanidol 1/500	-

Tableau 8 : Effets du leucocyanidol sur le développement du Penicillium à 25° (3 semaines) .

Conclusion

L'inhibition de la germination par les Cistacées est attribuable à un facteur hydrosoluble et thermostable appartenant au groupe des leucoanthocyannes . Pour sa part, le pouvoir inhibiteur du Pin maritime est apparemment relié au leucocyanidol qu'il renferme .

SECTION C) A LA RECHERCHE D'UN MECANISME D'ACTION DES INHIBITEURS :

De nombreuses recherches ont été entreprises ces dernières années afin de donner une explication satisfaisante au phénomène d'inhibition de la germination par les substances phénoliques . Certes comme nous l'avons vu plus haut, certaines hypothèses atteignent un fort degré de vraisemblance ; en revanche, aucune n'a pu être assortie de preuves irréfutables .

On sait aujourd'hui que les substances phénoliques et, en particulier les leucoanthocyannes, se comportent comme des inhibiteurs de très nombreux systèmes enzymatiques . A cet égard on est encore bien loin d'une étude systématique confrontant tous les enzymes et tous les polyphénols . Néanmoins, on peut logiquement penser que les enzymes nécessaires à la germination et à la croissance sont bloqués en présence de ces produits. Ce pourrait être le cas par exemple des α - amylases qui en temps normal , permettent au végétal d'utiliser les glucides .

En plus de gêner éventuellement les enzymes qui contrôlent la respiration, les inhibiteurs polyphénoliques pourraient perturber les échanges respiratoires de

diverses façons . Les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes dont les graisses font la démonstration certaine . Or la respiration est d'abord et avant tout un processus oxydatif . On peut aussi concevoir que la faculté de précipiter diverses protéines entraîne des modifications de membranes . Celles-ci ne seraient peut-être plus perméables aux phosphates ou même à l'oxygène .

En revanche on doit toujours avoir à l'esprit l'omniprésence des auxines et des gibbérellines chez les végétaux . Il est possible que les inhibiteurs soient en fait des antiauxines ou des antigibbérellines .

Enfin, phénomène curieux, certains inhibiteurs phénoliques voient à certaines concentrations leurs propriétés de croissance inversées : en présence d'auxine, ils potentialisent dans certaines conditions l'action de cette hormone . Ils se conduisent en somme en inhibiteurs " synergiques" .

Nous tenterons de voir quels sont les effets du leucocyanidol sur la respiration . En ce qui a trait à ses rapports éventuels avec les auxines et leur catabolisme (enzymatique), nous y consacrerons, vu leur importance, un chapitre séparé .

ACTION DU LEUCOCYANIDOL SUR LA RESPIRATION DES GRAINES :

Afin d'évaluer les effets du leucocyanidol sur la respiration, nous avons utilisé le micro-respiromètre à volume constant de WARBURG (appareils JOUAN et BRAUN) .

TECHNIQUE :

On mesure la respiration, exprimée en consommation d'oxygène en microlitres, de 20 graines de Blé trempant dans un volume de 1,5ml d'H_2O distillée . La cellule centrale contient 0,2ml de KOH à 20% de façon à absorber le CO_2 produit, et un segment de papier-filtre replié plusieurs fois en accordéon, ce qui permet d'augmenter la surface d'absorption . Les fioles ont un volume qui, ajouté à celui des manomètres remplis de liquide de BROGLIE , voisine les 15ml. On laisse l'expérience se poursuivre pendant 6 heures en effectuant les lectures, toutes les heures .

Un thermobaromètre (sans graines) fait partie de la manipulation . Il a pour but de tenir compte des variations de pression atmosphérique susceptibles de se produire pendant l'expérimentation . Le thermobaromètre permet de corriger les lectures positivement ou négativement selon les variations constatées .

On réalise bien sûr un témoin sans leucocyanidol et un témoin sans graines pour vérifier l'éventuelle consommation d'oxygène par le produit lui-même . On opère à 30° .

RESULTATS :

Les résultats obtenus font voir que le leucocyanidol aux concentrations de 1/100 et 1/250, nettement inhibitrices de la germination, ne réduit en aucune façon la consommation d'oxygène des graines .

Ils sont directement exprimés en microlitres d'oxygène absorbés, compte tenu de la constante propre à chaque fiole, laquelle se calcule selon la formule :

$$k_{O_2} = \frac{V_g \frac{273}{T} + V_f \alpha}{P_o}$$

où : V_g = volume de gaz en microlitres

T = température absolue

V_f = volume de liquide en microlitres

α = solubilité de l'oxygène dans le liquide utilisé (H_2O), en ml de gaz dissous par ml de liquide, lorsque le gaz est à la pression de 1 atmosphère = 0,02612

P_o = expression de la pression initiale

$$760 \text{ mm} \times \frac{13,60}{1,033} = 10.000$$

- 13,60 = densité du mercure
- 1,033 = densité du liquide de Broglie

Le volume d'oxygène utilisé par les graines s'obtient en multipliant le résultat de la lecture (sur le manomètre) par la constante kO_2 .

Il a évidemment été tenu compte du niveau du thermobaromètre avant d'effectuer les calculs corrigés .

Les résultats sont compilés dans le tableau 9 .

(voir tableau page suivante)

Temps	(graines + H_2O)	(leucocyanidol)			
		(1 %)	(1 %)	(1/250)	(1/250)
	Témoin 1	Témoin 2	Graines +	Témoin 3	Graines +
1 h	26,478	2,826	27,678	2,097	27,485
2 h	58,527	6,373	66,700	5,828	64,215
3 h	91,202	11,304	99,382	10,175	98,940
4 h	117,680	21,195	134,734	15,588	132,443
5 h	147,265	30,886	177,422	20,784	170,951
6 h	176,067	41,221	209,432	24,958	198,172

TABLEAU 9 : Action du leucocyanidol (1 % et 1/250) sur la respiration des graines de Blé (20) exprimée en microlitres d'oxygène consommé.

Conclusion :

Les résultats infirment donc l'hypothèse voulant que le leucocyanidol inhibe la germination par le truchement d'une action antirespiratoire .

*

CONCLUSIONS PRATIQUES :

Le phénomène d'inhibition de la germination se retrouve abondamment dans la nature . A la manière des Cistes et du Pin, plusieurs végétaux s'opposent apparemment à l'implantation d'autres plantes . Ce semble être le cas, par exemple , des "Bleuets" (Ericacée très voisine de la Myrtille), abondamment répandus dans certaines régions du Québec; il est en effet impossible de faire croître le Peuplier dans un sol où le Bleuet a poussé . Il faut donc en tenir compte en arboriculture et en recherche forestière .

Et , comme nous l'avons noté, les inhibiteurs ne sont pas forcément hétérologues, à preuve les graines de Betulla alleganiensis qui germent difficilement . Il faut laver ces semences à plusieurs reprises pour que le phénomène soit amorcé . On imagine facilement que dans la nature, la pluie se charge de l'opération . On s'en étonne à peine quand on songe que MASQUELIER (89) y a identifié des leucoanthocyannes .

De son côté, le bouturage du Pin pose des problèmes qui sont en rapport avec ces données . Le fait de retirer l'écorce de ce végétal particulièrement riche en leucocyanidol facilite la rhizogénèse, laquelle est dans les autres cas,difficile à obtenir .

CHAPITRE II

EFFETS DU LEUCOCYANIDOL SUR LA CROISSANCE AUXINIQUE

°°°

A) ACTION SUR LA CROISSANCE ELLE-MEME :

Il nous a été donné de nous rendre compte jusqu'ici du pouvoir inhibiteur exercé à certaines concentrations par le leucocyanidol sur la germination des graines, la croissance des racines et même celle des organes aériens .

Toutefois le problème du mécanisme de cette inhibition demeure entier . Il semble acquis que le produit ne modifie pas l'activité respiratoire . Mais qu'en est-il de ses relations avec les hormones de croissance ?

Aussi avons-nous estimé opportun d'apprécier l'activité du leucocyanidol sur la croissance induite par l'acide indole-acétique, étant donné les modifications apportées par plusieurs substances phénoliques . Il existe maintes façons d'évaluer cette action (117)(125) (128) . Notre attention a néanmoins été retenue par le test dit des "premiers entrenœuds" (ou "mésocotyles") d'Avoine proposé dès 1956 par NITSCH et NITSCH (105), dont la très bonne spécificité à l'égard des auxines , l'excellente sensibilité et l'obtention de résultats en général statistiquement uniformes ne constituent que les principaux avantages .

TECHNIQUE :

Les graines d'Avoine (var. Brighton) sont mises à tremper dans de l'eau distillée pour une période d'environ 2 heures, à la température ambiante, et sont ensuite semées à l'intérieur d'une épaisseur de vermiculite (1 à 2 centimètres), recouvrant elle-même une assise de laine de verre fortement imbibée d'eau . Ceci s'effectue dans un récipient hermétiquement clos permettant la saturation en humidité . On laisse pousser à l'obscurité totale, afin d'obtenir des plantules étiolées . Seules ces conditions permettent la formation d'un nœud qui servira de repère lors du prélèvement du segment .

Après 72 heures à l'étuve à 25°, on prélève les tiges qui ont atteint la longueur d'environ 25 à 30mm et on les coupe en segments de 5mm, ceci à 2mm au-dessous du nœud . On utilise à cette fin un appareillage très simple, constitué d'une plaque de plexiglas de 5mm d'épaisseur, perforée d'ouvertures ayant le diamètre des entrenœuds . On coupe à l'aide d'une lame de rasoir en acier inoxydable .

Les entrenœuds sont ensuite mis à flotter sur de l'eau distillée pendant 1 heure après quoi des lots de 10 sections sont constitués et disposés dans des tubes à essai . Ils y flottent sur 2ml d'une solution tampon à pH 5 (K_2HPO_4 1,794 g/litre + acide citrique, $1H_2O$ 1,019 g/l) contenant la substance à étudier et 2 % de saccharose . Ce sucre intensifie la réponse des entrenœuds à la stimulation auxinique .

Nous avons dû éliminer l'emploi de Tween 80 préconisé par les auteurs afin de favoriser une meilleure dissolution de l'AIA, car ce produit entraîne la précipitation du leucocyanidol .

Les tubes sont placés presque horizontalement sur un portoir rotatif, tournant à la vitesse d' 1/8 de tour/minute . La rotation empêche les entrenœuds de se courber pendant leur allongement , résultat d'un contact irrégulier de leur surface avec la solution d'auxine .

On laisse croître les entrenœuds de 18 à 20 heures à l'obscurité à 25° , après quoi on effectue les mesures d'allongement à la loupe binoculaire .

Toutes les opérations s'effectuent en faible éclairage vert . Cette précaution a pour but d'écarter l'influence de la lumière (rouge, en particulier) qui modifie la croissance des mésocotyles et se trouve être ainsi une source importante d'erreur .

RESULTATS :

Le tableau 10 rassemble les résultats obtenus en prenant la moyenne de dix mesures pour chaque lot . On les exprime soit en surcroît d'élongation par rapport aux témoins (solution tampon + saccharose 2%), soit en pourcentage d'élongation par rapport à l' AIA 10^{-7}M .

Le leucocyanidol seul ne manifeste aucun pouvoir auxinique vrai . En présence d' AIA toutefois, on constate qu'il potentialise l'allongement que provoque l'hormone . Soulignons que cette action synergique passe nettement par un maximum pour une concentration 10^{-5}M du polyphénol .

Produits essayés	*Surcroît d'élongation en mm par par rapport aux témoins*	*Elongation p. 100 par rapport à AIA 10^{-7}M*
AIA 10^{-7}M	2,2	
AIA 10^{-7}M + Leucocyanidol 10^{-7}M	2,4	+ 9
" " 10^{-6}M	2,8	+ 27
" " 10^{-5}M	3,6	+ 63
" " 10^{-4}M	3,5	+ 59
" " 10^{-3}M	2,4	+ 9
Leucocyanidol de 10^{-7} à 10^{-4}M	néant	

Tableau 10 : Test d'élongation des premiers entrenœuds d'Avoine . Action de l'AIA 10^{-7}M seul et additionné de leucocyanidol .

B) ACTION SUR L'ACIDE INDOLEACETIQUE-OXYDASE (AIA - O) :

Bien souvent les phénols modifient le catabolisme auxinique . A cet égard les polyphénols sont généralement considérés comme inhibiteurs de l'enzyme responsable de cette dégradation . Mais comment se comporte le leuco-cyanidol vis-à-vis de l' AIA -O ?

TECHNIQUES :

1) Préparation Enzymatique d'AIA-O:

Elle s'opère d'après les données de GASPAR, BASTIN et LEYH (44) mettant en œuvre les racines de Lentille .

Les graines de Lens culinaris sont d'abord imbibées d'eau pendant 4 heures, après quoi on les sème sur du papier filtre reposant sur du coton absorbant fortement humide . Après 48 heures à l'obscurité, on prélève sous lumière verte les 12mm terminaux des racines ayant atteint environ 18mm à ce moment-là .

Les racines sont broyées au mortier en présence d'un tampon phosphate (Sörensen) de pH 6,1, à une température voisine de 0° (limites extrêmes -6° et + 4°C). Après centrifugation à 8000 tours/minute pendant 15 minutes, à la même température, on obtient un surnageant qui constitue un extrait brut . Afin d'en éliminer les inhibiteurs naturels, cet extrait brut subit une dialyse de 24 heures contre l'eau distillée (58) . En général 100 racines fournissent 10ml d'extrait enzymatique .

2) Incubation Enzymatique :

On amène au volume total de 10ml les divers mélanges et solutions témoins en utilisant le tampon phosphate (pH 6,1). Chaque essai porte sur :

a) une solution témoin d'AIA : 175 µg dans 10ml de tampon

b) un mélange AIA+AIA-O: 5ml d'extrait enzymatique, 175 µg d'AIA, 5ml de tampon

c) un mélange identique au précédent, mais dans lequel l'extrait enzymatique a subi un chauffage à 100°C pendant 20 minutes.

d) divers mélanges AIA-AIA-O comme en (a) mais comportant en outre, du leucocyanidol à des concentrations allant de 10^{-3} à 10^{-7}M

e) une solution témoin d'AIA-O: 5ml d'extrait enzymatique, 5ml de tampon

f) une solution témoin de leucocyanydol 10^{-3}M en tampon phosphate.

L'incubation dure 3-4 heures et se fait à 36°C, température optimale pour l'extrait enzymatique mis en œuvre (40). Toutes les opérations mentionnées depuis la préparation de cet extrait se font en lumière verte.

3) Extraction :

Après incubation, on amène chaque mélange à pH 3,5 (HCl 2N) et l'on extrait successivement par 10, 10 et 5ml d'éther privé de peroxydes. On sèche les phases éthérées sur Na_2SO_4, on les évapore à sec et l'on reprend le résidu par 0,5ml d'alcool.

4) Chromatographie sur Papier :

On opère par voie ascendante, sur papier Whatman n°1, dans le mélange Isopropanol/NH_4OH/H_2O (10:1 : 1 en volumes). On dépose 10 µl de chaque résidu alcoolique . On révèle avec le réactif d' Ehrlich . L' AIA a un Rf compris entre 0,45 et 0,50 .

5) Examen Spectrophotométrique :

a) Incubation Enzymatique et Extraction :

On opère comme précédemment mais en doublant les doses d'AIA (300 µg) . Le résidu est repris par 1,5ml d'alcool .

b) Chromatographie en Couche Mince :

On dépose en trait continu 0,5ml de résidu alcoolique (correspondant pour l'AIA , à 100 µg , sur des plaques de silice G Merck (20x20cm), 250 µ d'épaisseur, activation à 100°C pendant 40 minutes) . On développe dans le système Acétate de méthyle/Isopropanol/NH_4OH (45 : 35 : 20 en volumes) sur 10cm de parcours . Après séchage des plaques dans un courant d'air frais, la zone de Rf 0,40-0,45 (AIA) repérée par révélation marginale au réactif de Salkowski - Pilet (126) est immédiatement prélevée . On élue avec 2,5ml d'éthanol .

c) Lecture Spectrophotométrique :

On examine les éluats à 280 mµ , en prenant l'alcool comme blanc(spectrophotomètre JOUAN sénior, cuves de 1cm) .

RESULTATS :

1) Chromatographie sur Papier :

La figure 5 reproduit à titre d'exemple un chromatogramme révélé par le réactif d' Ehrlich .

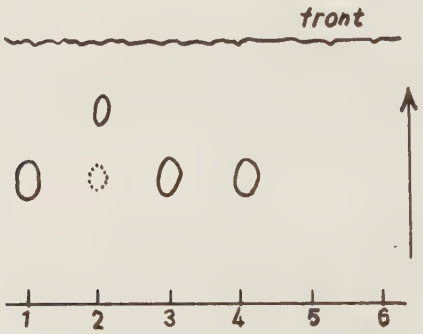


Figure 5 : Chromatogramme sur papier Whatman n°1
1 : AIA, 2 : AIA + AIA-O, 3 : AIA + AIA-O inactivée à 100°C., 4 : AIA + AIA-O + Leucocyanidol, 5 : AIA-O, 6 : Leucocyanidol.

On observe de gauche à droite :

1- l'AIA forme une tache de Rf = 0,50

2- en présence d'AIA-O, il ne subsiste qu'une trace d'AIA , tandis qu'un catabolite de l'hormone se révèle plus haut .

3- chauffée à 100°C, l'AIA-O est inactivée : l' AIA persiste.

4- en présence de leucocyanydol (10^{-3} à 10^{-5}M) , l'AIA-O est inhibée : l'AIA persiste . Aux concentrations 10^{-6} et 10^{-7}M, le leucocyanidol ne provoque qu'une inhibition partielle de l'enzyme et les taches d'AIA s'estompent .

5 et 6 - témoins de leucocyanidol et d' AIA-O ayant subi le même traitement (extraction) et montrant l'absence d'impuretés sensibles au révélateur .

On voit donc que le leucocyanidol se comporte comme un inhibiteur du système enzymatique oxydant l' AIA .

2) Examen Spectrophotométrique :

Il confirme les résultats obtenus par chromatographie sur papier . Le tableau 11 relate la moyenne des lectures faites au cours de dix essais pour des concentrations 10^{-3} à 10^{-7}M de leucocyanidol . En présence de 10^{-3} et 10^{-4}M de l'inhibiteur, on retrouve autant d'AIA que dans le mélange témoin . Les concentrations de 10^{-5} et 10^{-6}M ne se montrent que partiellement inhibitrices . A 10^{-7}M, l'activité disparaît .

Produits essayés	*Densité Optique à 280 mμ*
AIA seul (100 μg)	0,55
AIA + AIA-O	0,25
AIA + AIA-O + Leucocyanidol 10^{-3}M	0,56
" " " 10^{-4}M	0,55
" " " 10^{-5}M	0,41
" " " 10^{-6}M	0,33
" " " 10^{-7}M	0,26

Tableau 11 : Examen spectrophotométrique après incubation enzymatique .

C) MECANISME DU BLOCAGE DE L'AIA-O PAR LE LEUCOCYANIDOL :

Nous tenons désormais pour certaine l'inhibition de l'AIA-O par le leucocyanidol . Mais de quelle façon le polyphénol affecte-t-il le système enzymatique ?

1) Précipitation des Protéines :

Etant donné la nature protéique des enzymes, on peut penser que la capacité du leucocyanidol de précipiter certaines protéines soit à la source du phénomène . Or, nous avons constaté que les mélanges d'incubation soumis à l'action du produit laissaient déposer un précipité dans lequel nous avons du reste pu mettre en évidence du leucocyanidol .

Néanmoins, l'impureté relative de la préparation enzymatique commande le plus grand scepticisme. On ne peut en effet s'empêcher de penser que le phénomène de précipitation implique plusieurs protéines . Le dépôt constaté ne peut donc être attribué spécifiquement à l'AIA-O .

2) Inhibition Compétitive:

On sait que l'AIA-O, tout au moins sous la forme imparfaite que nous utilisons, consiste en un mélange de différents enzymes . On sait aussi que l'aptitude à oxyder l' AIA est liée à la capacité d'oxyder les phénols. Une compétition des substrats (leucocyanidol et acide indole-acétique) pour l'enzyme est donc tout aussi plausible .

3) Formation de Complexes avec l'AIA:

Certains auteurs notent la capacité de quelques substances phénoliques à former des complexes avec l'acide indole-acétique . A la lumière de ces constatations, on peut se demander si le leucocyanidol ne formerait pas avec l'AIA des complexes inattaquables par l'enzyme responsable de la dégradation de l'hormone . C'est ce que nous avons entrepris de vérifier .

TECHNIQUE :

Chromatographie sur papier :

Sur papier Whatman n°1, on dépose 3 spots de 10 µl de solutions en tampon phosphate à pH 6,1 contenant :

1 . AIA 10^{-5}M (témoin 1)

2 . leucocyanidol 10^{-5}M (témoin 2)

3 . 20 µl d'un mélange de (a) et (b) en proportions égales .

On développe dans le solvant Isopropanol/H_2O (8 : 2 en volumes) sur 15cm . On révèle avec le réactif d'Ehrlich .

RESULTATS :

Aucun complexe n'est mis en évidence . En effet le mélange AIA-leucocyanidol se sépare ; le leucocyanidol (mélange de différents états de condensation) donne une longue traînée . Celle-ci est surmontée de la tache de l' AIA au Rf = 0,85 (figure 6) .

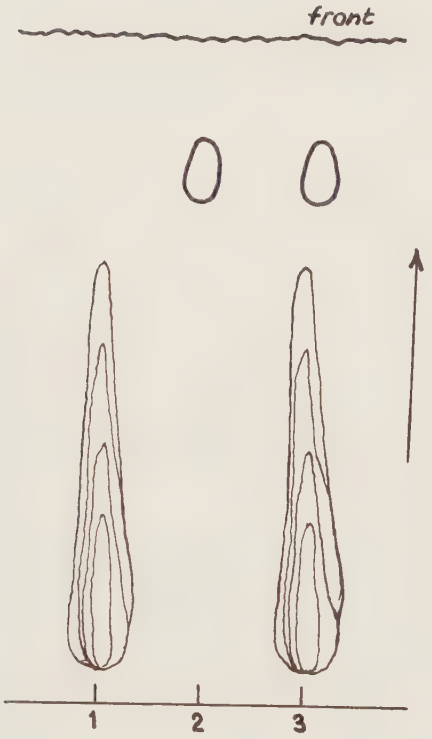


Figure 6 : Chromatogramme (Whatman n°1)
1 : leucocyanidol 2 : AIA
3 : mélange AIA + leucocyanidol .

4) Chélation du Constituant Métallique de l' Enzyme :

Aucun auteur n'a pu trancher le débat amorcé au sujet de la composante métallique de l'enzyme . Les partisans du fer y apportent des arguments tout aussi séduisants que les tenants du cuivre (32) (40) (41) (117) (137) .

Malheureusement la toxicité du cuivre et même du fer, aux concentrations où le leucocyanidol est actif sur le système enzymatique, ne permet pas de vérifier si l'action inhibitrice du produit est due à une chélation des ions Fe^{++} (Fe^{+++}) ou Cu^{++}. Néanmoins, les importantes modifications spectrales imposées au leucocyanidol par ces cations invitent à relier l'inhibition de l'enzyme à la très grande affinité qui existe entre ces métaux et le polyphénol .

Cette opinion se fonde sur divers travaux antérieurs, qui montrent que l'action inhibitrice du leucocyanidol sur plusieurs systèmes enzymatiques est bien due à la chélation du métal de l'enzyme . C'est le cas, par exemple, de l'acide ascorbique - oxydase . MASQUELIER (86) (87) attribue le blocage de cet enzyme cuprique par le leucocyanidol, à la complexation des ions Cu^{++} . Au surplus , l'auteur note que le polyphénol est aussi capable d'inhiber l'oxydation spontanée de l'acide ascorbique par les seuls ions Cu^{++} . Des remarques de ce genre s'appliquent semble-t-il au blocage de l'hyaluronidase par le polyphénol .

En revanche, bien que la participation du manganèse au système enzymatique en tant que cofacteur soit un fait généralement admis, rien ne permet de penser qu'il forme des chélates avec le leucocyanidol . En effet, nous avons vu plus haut qu'il ne modifie en rien le spectre U. V. du leucocyanidol .

DISCUSSION :

Même si le mécanisme intime ne nous est pas connu de façon absolument certaine, l'inhibition de l'AIA-O par le leucocyanidol est désormais un fait acquis . Elle explique à coup sûr cet étrange comportement qui fait du leucocyanidol un "inhibiteur synergique" . En bloquant le système enzymatique responsable de la dégradation de l'hormone, il potentialise la croissance induite par l'auxine .

Il y a même lieu de se demander si ses effets inhibiteurs sur la germination et la croissance des racines ne résultent pas d'une même cause . Bien sûr, les concentrations inhibitrices de la germination et celles qui favorisent la croissance ne sont pas les mêmes, le premier phénomène ne se manifestant qu'à des doses relativement élevées . Néanmoins on sait que les concentrations d' AIA stimulatrices pour les tiges sont inhibitrices pour les graines et les racines . Ne pourrait- on pas penser qu'en bloquant l'AIA-O des racines, le leucocyanidol permette à l'AIA de s'y accumuler, ces organes étant de la sorte soumis à des concentrations pour eux supra-optimales de l'hormone, ce qui aurait pour résultat de freiner avec plus ou moins d'intensité le processus de germination et d'allongement des racines .

D) CONCLUSIONS PRATIQUES :

Plusieurs auteurs ont déjà signalé l'intervention des leucoanthocyannes dans les mécanismes de la croissance végétale . La caractérisation par SHANTZ et STEWARD (146) , dans l'endosperme d' Aesculus worlitzensis

et dans certaines fractions du lait de Coco, d'une kinine qu'ils croient être un 3-glucoside de leucocyanidol a déjà été mentionnée plus haut. On estime du reste qu'il existe une synergie entre cette catégorie de kinines et l'auxine.

Les vertus du lait de Coco justifient l'usage qu'on en fait dans la mise en œuvre des cultures de tissus. En effet, il a été reconnu à cette substance un pouvoir de protection de l'auxine ce qui favorise le développement des cultures.

La culture des tissus végétaux demeure une méthode d'étude botanique de plus en plus utilisée et on peut penser que l'addition de leucocyanidol à l'acide indole-acétique puisse favoriser le développement de ces cultures.

CONCLUSIONS GENERALES

°°°

I

Au cours de ce travail, nous avons eu l'opportunité de nous intéresser à la curieuse mais non moins réelle existence des plantes exclusives .

Il nous a de la sorte été donné de confirmer que des extraits aqueux de Cistes possèdent un effet inhibiteur certain sur la germination et la croissance des racines . Cette propriété est le fait d'un principe hydrosoluble et thermostable en qui nous avons reconnu une leucoanthocyanne .

Ultérieurement, nous avons eu l'occasion de nous rendre compte que des extraits aqueux d'aiguilles de Pin maritime manifestaient des propriétés similaires . C'est le leucocyanidol qui est responsable de ces propriétés apparentant incontestablement le Pin à la catégorie des plantes exclusives . Notons encore que l'opposition du leucocyanidol à la croissance des racines s'étend à une inhibition du bouturage des rameaux de Peuplier, par ailleurs très aisé .

Le polyphénol est lessivé dans le sol . Il est incapable de fixation que le sol soit constitué de sable ou de terre de bruyère . D'autre part, son hydrosolubilité fait que le lessivage artificiel prive rapidement les aiguilles

de leur pouvoir inhibiteur . On peut penser que dans la nature, la pluie a la même action . La durée de l'inhibiteur dans le sol serait donc assez limitée .

Il est également logique de penser que les microorganismes présents dans le sol puissent participer à sa disparition, bien que le leucocyanidol ne paraisse pas constituer une bonne source de carbone pour le genre Penicillium . En revanche, le champignon n'est pas gêné par la présence du polyphénol .

Dans une tentative ayant pour but de préciser le mécanisme d'action des propriétés inhibitrices du leucocyanidol sur la germination et la croissance, nous nous sommes rendu compte que le produit était sans action sur la respiration des graines . Il faut donc rechercher une autre explication .

II

Paradoxalement, le leucocyanidol potentialise , à basse concentration, la croissance des organes aériens en synergie avec l'acide indole-acétique, hormone de croissance .

Cette action de synergie avec l' AIA s'exerce par le truchement du catabolisme auxinique . En effet, le leucocyanidol inhibe l'acide indole-acétique-oxydase(AIA-O), enzyme chargé de dégrader l' AIA , ce qui a pour résultat de maintenir le taux réel et effectif de l'hormone à un niveau supérieur . Ceci se traduit par un allongement des tiges (entrenœuds d' Avoine) qui dépasse en importance la seule croissance due à l'auxine .

A la recherche d'un mécanisme d'action pour expliquer ce blocage, nous n'avons pu mettre en évidence la formation de complexe entre l'AIA et le leucocyanidol. C'est pourquoi nous avons écarté l'hypothèse voulant que l'inhibition résulte de la constitution d'un tel complexe, lequel serait inattaquable par l'enzyme.

En revanche nous estimons plausible de voir en ce blocage enzymatique une conséquence de la grande affinité du leucocyanidol pour le fer et le cuivre. Le constituant métallique de l'enzyme n'est toutefois pas identifié avec certitude.

Nous estimons au surplus que les propriétés inhibitrices de la germination du leucocyanidol pourraient, comme la potentialisation de croissance, s'expliquer par un blocage de l'AIA-O. En effet il est possible de concevoir que l'inhibition de cet enzyme entraîne un taux anormalement élevé d'AIA au niveau des racines, celles- ci y étant d'ailleurs beaucoup plus sensibles que les organes aériens. L'auxine se trouverait donc en concentration supra-optimale et s'opposerait ainsi à la germination et à la croissance des racines. On sait en effet que l'AIA inhibe la germination à des concentrations aussi basses que 10^{-7}M.

*

Nous avons déjà mentionné la répartition générale des leucoanthocyannes chez les plantes. On considère aujourd'hui que ces polyphénols constituent avec les glucides un des deux groupes de substances les plus abondantes

du règne végétal . Cette pluralité serait étonnante si elle ne s'assortissait pas de différentes fonctions dont on entrevoit chaque jour davantage l'existence .

On tient aujourd'hui pour certaine la participation des leucoanthocyannes aux processus de lignification. On considère en effet ces substances comme des précurseurs de la lignine .

Aussi notre étonnement n'est que très relatif à la vue des propriétés physiologiques que nous leur découvrons . L'inhibition de la germination qui préside à la constitution de groupes végétaux dits "exclusifs" et la potentialisation de la croissance auxinique par le leucocyanidol ne sont sans doute pas les seules fonctions physiologiques de cette leucoanthocyanne, mais elles permettent peut-être de considérer désormais ce polyphénol comme un régulateur de la croissance végétale .

B I B L I O G R A P H I E

1 - ALLARY, S.
Remarque sur le Rôle du Complexe Inhibiteur β dans la Dormance des Bourgeons de Quercus pedunculata Ehrh.
C.R. Acad. Sci. (F), 1961, 252, no 6, 930-2.

2 - AVELLA,T., DINANT, M. et GASPAR, T.
Action des Acides o-, m- et p-hydroxybenzoïques sur la Destruction de l'Acide β-Indolylacétique par la Catalase de Foie de Boeuf.
Bull. Soc. r. Sci. Liège, 1966, 35, no 3-4, 307-14.

3 - BACH, D., MASCRE, M. et DEYSSON, G.
Physiologie et Biologie des Plantes Vasculaires. (tome III).
Société d'Edition d'Enseignement Supérieur,1961, p.219-28.

4 - BARDINSKAJA, M.S., PRUSAKOVA, L.D. et SHUBERT, T.A.
Les Régulateurs de Croissance de Nature Polyphénolique (en russe).
Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R., 1962, 142, no 1, 222-5 (résumé du C.N.R.S.).

5 - BASKIN, J.M., LUDLOW, C.J., HARRIS, T.M. et WOLF,F.T.
Psoralen, an Inhibitor in the Seeds of Psoralea subacaulis (Leguminosae).
Phytochemistry, 1967, 6, no 9, 1209-13.

6 - BASTIN, M.
Métabolisme Auxinique et Rhizogénèse. I-Mise en évidence de Complexes Auxines-Phénols.
Bull. Soc. Roy. Sc. Liège, 1964, 5, no 5-6, 349-53.

7 - BASTIN, M.
Métabolisme Auxinique et Rhizogénèse. III-Interactions entre l'Auxine et quelques Substances Phénoliques Présentes dans les Boutures d'Impatiens balsamina L.
Cong. Colloq. Univ. Liège, 1966, 38, 123-40.

8 - BASTIN, M.
Root Initiation, Auxin Level and Biosynthesis of Phenolic Compounds.
Phytochem. et Phytobiol., 1966, 5, no 5-6, 423-9.

9 - BASTIN, R.
Traité de Physiologie Végétale.
A Blanchard, édit. Paris, 1967, 587 p.

10 - BATE-SMITH, E.C.
Leucoanthocyanins. I-Detection and Identification of Anthocyanidins formed from Leuco-anthocyanins in Plant Tissues.
Biochem. J., 1954, 58, no 1, 122-5.

11 - BATE-SMITH, E.C.
Plant Phenolics in Foods.
in "The Pharmacology of Plant Phenolics"
Fairbairn, J.W. édit. London, Academic Press, 1959, 133-47.

12 - BAYER, M.H.
Thin Layer Chromatography of Auxin and Inhibitors in Nicotiana glauca, N. Langsdorffii and Three of their Tumor-forming Hybrids.
Planta (Berl.), 1967, 72, no 11, 329-37.

13 - BEILER, J.M. et MARTIN, G.J.
The Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids and Related Compounds.
J. Biol. Chem., 1951, 152, 831-4.

14 - BELHANAFI,A.
Effets de quelques Chélateurs et de l'Acide β-Indolylacétique sur la Croissance et le Catabolisme Auxinique des Racines.
Thèse doct. Sci. Lausanne, 1964, 129 p.

15 - BERNHARD, R.A.
Some Studies of Coumarin and Coumarin Analogues as Germination inhibitors of Radish Seeds.
Bot. Gaz. (U.S.A.), 1959, 121, no 1, 17-21.

16 - BLUMENTHAL-GOLDSHMIDT, S.
The Inhibition of IAA-Oxidase by Phenolic Substances present in Lettuce seeds.
Bull. Res. Counc. of Israel, 1961, 9D, 187-9.

17 - BONNER, J. et GALSTON, A.W.
Principles of Plant Physiology.
W.H. Freeman & Co, San Francisco, 1955, 499 p.

18 - CARLES, J.
Géographie Botanique.
Collection "Que Sais-je" (no 313), Presses Universitaires de France, 1963, p.54-59.

19 - CHADWICK, A.V. et BURG, S.P.
An Explanation of the Inhibition of Root Growth Caused by Indole-3-acetic Acid.
Plant Physiol. (U.S.A.), 1967, 42, no 3, 415-20.

20 - CHAMPAGNAT, P., GOURGAUD, M., BEYSSEIRE, L., et DURANTON, M.
Levée des Inhibitions Provoquées par des Acides Phénoliques sur des Bourgeons, des Racines et des Segments de Coléoptiles.
Bull. Soc. fr. Physiol. Vég., 1961 (1962), 4, no 2, 84-5.

21 - CLAVEAU, P.
Recherches Biochimiques et Pharmacologiques sur le Leucocyanidol de la Pruche.
Thèse doct. Université, Bordeaux, 1964.

22 - COLLET, G.
Rôle du Substrat Chromatographique (sur Couche Mince) dans un Test Biologique (Coléoptiles de Triticum).
C.R. Acad. Sci. Fr., 1964, 259, no 4, 871-3.

23 - COLLET, G., DUBOUCHET, J. et PILET, P.E.
Etude, par Chromatographie sur Couche Mince, de quelques Composés Indoliques. Méthodes et Premiers Résultats.
Physiol. vég., 1964, 2, 157-194.

24 - CRONENBERGER, L., VILLE, R. et PACHECO, H.
Purification Partielle des Auxines-Oxydases des Racines de Pisum sativum.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1966, 48, no 6, 833-6.

25 - DESPOIS, R.
Coumarins and Phenolic Acids in Relation to Inhibition and Activation of Germination (en Français).
Proc. 4th. Internation. Biochem. Vienna, 1958, V. Biochem. Antibiotics, 1959, p.33-6.

26 - DUMITRU, I.F., VERBEEK, R. et MASSART, L.
Influence de l'Acide Gibbérellique et de la Coumarine sur la Croissance de l'Orge et la Formation de l'α-amylase.
Naturwisserschaften, 1964, 51, no 20, 490-1.

27 - EVENARI, M.
The Physiological Action and Biological Importance of Germination Inhibitors.
Soc. Exp. Biol. Symp., 1957, no XI, 21-43.

28 - FALQUI, M.C.
Alcuni Effeti della Cumarina sulla Germinazione di Triticum durum Desp.
Ric. Sci. Parte II ; R.C.Sez. B. biol., 1962, 2, no 2, 106-8.

29 - FLETCHER, R.A. et RENNEY, A.J.
A Growth Inhibitor found in Centaurea Spp.
Canad. J. Plant. Sci., 1963, 43, no 4, 475-81.

30 - FLOYD, G.L. et RICE, E.L.
Inhibition of Higher Plants by Three Bacterial Growth Inhibitors.
Bull. Torrey Bot. Club (USA), 1967, 94, no 3, 125-9.

31 - FOSTER, R.V., McRAE, D.H. et BONNER, J.
Auxin-Induced Growth Inhibition, a Natural Consequence of Two-Point Attachment.
Proc. National Acad. Sci. (USA), 1952, 38, 1014-22.

32 - FOX, L.R., PURVES, W.K. et NAKADA, H.I.
The Role of Horseradish Peroxidase in Indole-3-Acetic Oxidation.
Biochemistry, 1965, 4, no 12, 2754-63.

33 - FRAINO DE PANNIER, R.
Aislamento e Identificacion de Inhibidores de la Germinacion en Semillas de Phaseolus vulgaris (bean seeds).
Acta Ci. Venez., 1964, 15, no 1, 16-21.

34 - FROMANTIN, J.
Apparition de Substances Inhibitrices de la Germination dans les Milieux où ont Germé certaines Graines de Conifères.
Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse, 1965, 100, no 1-2,20-6.

35 - FURUYA, M., GALSTON, A.W. et STOWE, B.B.
Isolation from Peas of Cofactors and Inhibitors of Indolyl-3-Acetic Acid Oxidase.
Nature, 1962, 193, 456-7.

36 - GADAL, P. et BOUDET, A.
Sur l'Inhibition des Enzymes par les Tannins des Feuilles de Quercus sessilis Ehrh. Inhibition de la β-amylase.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1960, 260, no 15, 4252-5.

37 - GALSTON, A.W. et DALBERG, L.Y.
The Adaptive Formation and Physiological Significance of Indole-Acetic Acid-Oxidase.
Amer. J. Bot., 1954, 41, no 5, 373-80.

38 - GARAY, A. et SAGI, F.
The Importance of Phenols in the "Adaptive" Formation and Action of Auxin-Oxidase.
Acta Bot., 1962, 8, 51-7.

39 - GARB, S.
Differential Growth-Inhibitors Produced by Plants.
Bot. Rev. (USA), 1961, 27, no 3, 422-43.

40 - GASPAR, T.
Catabolisme Auxinique et Effecteurs Auxines-Oxydasiques, Etude Comparée chez Lens culinaris et Salvia splendens.
Bull. Soc. r. Sci. Liège, 1965, 34, no 7-8,391-537.

41 - GASPAR, T.
Les Auxines-Oxydases : Chimie et Physiologie.
Année biol. Fr., 1965, 4, no 7-8, 437-70.

42 - GASPAR, T.
Action de Quelques Composés Phénoliques sur l'Activité Auxines-Oxydasique, la Teneur en Auxines et la Croissance.
Cong. Colloq. Univ. Liège, 1966, 38, 41-53.

43 - GASPAR, T.
Phénoloxydase, Peroxydase, Catalase et Acide β-Indolylacétique-Oxydase dans les Racines de Lens culinaris.
Arch. Intern. Physiol. Bioch. (Belg.), 1966, 74, no 4, 709-10.

44 - GASPAR, T., BASTIN, M. et LEYH, C.
Composés Phénoliques, Acide β-Indolacétique et Activité Auxine-Oxydasique.
Acad. r. Belg. Bull. Cl. Sci., 1964, 50, no 7,799-815.

45 - GASPAR, T., BOUILLENNE-WALRANG, M.
L'activité Auxines-Oxydasique Régulatrice de la Croissance après Traitement à l'Acide Gibbérellique.
Cong. Colloq. Univ. Liège, 1966, 38, 411-20.

46 - GASPAR, T., PILET, P.E.
Action d'Extraits de Racines de Salvia sur la Destruction In Vitro de l'Acide β-Indoleacétique par des Extraits de Racines de Lens.
Rev. gén. Bot. Fr., 1964, 158, no 1, 22-44.

47 - GASPAR, T. et XHAUFFLAIRE, A.
Effect of Kinetin on Growth Auxin Catabolism, Peroxidase and Catalase Activities.
Planta (Berl.), 1967, 72, no 3, 252-7.

48 - GASPARIKOVA, O.
Interaction of β-Indoleacetic Acid and Thiamine in the Growth and Respiration of Pea Plants.
Biologia, Ceskosl.,1967, 22, no 3, 221-6.

49 - GAUSSEN, H.
Géographie des Plantes.
Librairie Armand Colin, Paris, 1954, p.133.

50 - GLUZDAKOV, S.I.
Rôle Ecologique et Bactéricide de Certaines Plantes dans la Région de Sajan (en russe).
In : "Mikroorganizmy i Zelence Rastenie", Novosibirsk, Izdat. Nauka, 1967, 21, 5 x 14, 119-21 (résumé du C.N.R.S. 29-17-932).

51 - GOLDACRE, P.L., GALSTON, A.W., et WEINTRAUB, R.L.
The Effects of the Substituted Phenols on the Activity of the Indoleacetic Oxidase of Peas.
Arch. Bioch. Biophys., 1953, 43, 358-73.

52 - GOLDSCHMIDT, E.E., GOREN, R. et MONSELISE, S.P.
The IAA-Oxidase System of Citrus Roots.
Planta (Berlin), 1967, 72, no 3, 213-22.

53 - GORTER, C.J.
The Phytohormones : History, Chemical Analysis,Role in Physiology.
Cong. Colloq. Univ. Liège, 1966, 38, 21-33.

54 - GORTNER, W.A. et KENT, M.
Indoleacetic Acid Oxidase and an Inhibitor in Pineapple Tissues.
J. Biol. Chem., 1953, 204, 593-603.

55 - GORTNER, W.A. et KENT, M.
The Coenzyme Requirement and Enzyme Inhibitors of Pineapple Indoleacetic Acid Oxidase.
J. Biol. Chem., 1958, 233, 731-35.

56 - GRUMMER, G.
The role of Toxic Substances in the Interrelationship between Higher Plants.
Soc. Exp. Biol. Symp., 1961, no 15, 219-228.

57 - HARBORNE, J.B.
Biochemistry of phenolic Compounds.
Academic Press, London, New York, 1964, pp. vii, 152-62, 511-39.

58 - HARE, R.C.
Indoleacetic Acid Oxidase.
The Bot. Rev., 1964, 30, 129-65.

59 - HENDERSHOTT, C.H.et WALKER, D.R.
Identification of a Growth Inhibitor from Extracts of Dormant Peach Flower Buds.
Science (USA), 1959, 130, no 3378, 798-800.

60 - HENDERSON, J.H.M. et NITSCH, J.P.
Effect of Certain Phenolic Acids on the Elongation Of Avena First Internodes in the Presence of Auxins and Tryptophan.
Nature, 1962, 195, no 4843, 780-2.

61 - HILLMAN, W.S. et GALSTON, A.W.
Interaction of Manganese and 2,4-dichlorophenol in the Enzymatic Destruction of Indoleacetic Acid.
Physiol. Plant., 1956, 9, 230-35.

62 - HILLMAN, W.S. et GALSTON, A.W.
Inductive Control of IAA-Oxidase Acitivty by Red and Near Infrared Light.
Plant Physiol., 1957, 32, 129-35.

63 - ISHII, H.
Some Properties of a Bound IAA in Pea Epicotyl.
Bot. Mag. (Jap.), 1964, 77, no 915, 362-3.

64 - ISOGAI, Y., OKAMOTO, T. et KOIZUMI, T.
Studies on Plant Growth Regulators. I-Isolation of Indole-3-Acetamide, 2-Phenyl-Acetamide and Indole-3-Carboxaldehyde from Etiolated Seedlings of Phaseolus.
Chem. Pharm. Bull., 1967, 15, no 2, 151-8.

65 - JACOBSON, B.S. et CAPLIN, S.M.
Distribution of an Indoleacetic Acid-Oxidase Inhibitor in the Storage Root of Daucus carota.
Plant. Physiol., 1967, 42, no 4, 578-84.

66 - KALININ, F.L.
Le Mécanisme de l'Activation et du Freinage de la Croissance des Plantes (en russe).
In : "Rost i Ustojchivost'rastenij III", Kiev, Naukova Dumka, 1967, 22 x 15, 17-32 (résumé du C.N.R.S. 29-17-2925).

67 - KAMINSKI, C.
Activité Acide Indolyl-Acétique-Oxydase d'Extraits de Racines de Coleus, Filtrés sur Gel de "Sephadex G. 25 Fine".
Bull. Soc. Royale Sciences Liège, 1966, 35, no 5-6, 386-93.

68 - KAMINSKI, C.
Phénoloxydases, Peroxydases et Acide β-Indolyl-Acétique-Oxydases chez Coleus blumei.
Acad. r. Belg., Bull. Cl. Sci., 1966, 52, no 1, 147-50.

69 - KATSUMI, M., TAMURA, S. et SAKURAI, A.
IAA-Oxidase Activity in Light Grown Cucumber Hypocotyls Treated with Helminthosporol.
Planta (Berl.), 1967, 74, no 1, 97-100.

70 - KAUFMAN, P.B.
The Effects of Growth Substances on Intercalary Growth and Cellular Differentiation in Developing Internodes of Avena sativa. I-The Effects of Indole-3-Acetic Acid.
Physiol. Plant., 1965, 18, 424-43.

71 - KERSTETTER, R.E. et WEITT, G.W. Jr.
Direct Assay of IAA Decarboxylation Rate in Excised Tobacco Pith : Relation to Aging.
Plant. Physiol., 1966, 41, no 5, 903-4.

72 - KHAN, A.A. et TOLBERT, N.E.
Inhibition of Lettuce Seed Germination and Root Elongation by Derivatives of Cycocel.
Physiol. Plant., 1966, 19, no 1, 81-6.

73 - KIENTZLER, L., BONNET, N. et WATRELOS, D.
Action des Extraits de Pailles de Céréales sur la Germination des Semences de Blé et de Colza et le Développement des Plantules.
Bull. Ec. Nation. Sup. Agron. Nancy, 1961, 3, no 1, 12-22.

74 - KOFLER, L.
Croissance et Développement des Plantes.
Gauthier-Villars (Paris), "Collection d'Enseignement Biologique", 1963, 234 p.

75 - KOPCEWICZ, J., MICHWIEWICZ, M. et KRIESEL, K.
Dynamics of Gibberellin-Like Substances and Growth Inhibitors in Pine (Pinus silvestris L.) and Larch (Larix decidua Mill.) in Relation to Age and Season.
Bull. Acad. Polon. Sci. (Ser. Sci. biol.), 1967, 15, no 7, 427-33.

76 - KOVES, E. et VARGA, M.
Comparative Examination of Water- and Ether Soluble Inhibiting Substances in Dry Fruits.
Phyton, Argent., 1959, 12, no 2, 93-9.

77 - LABARCA, C.G.
Isolation an Partial Characterization of Bound Forms of Indole-3-Acetic Acid in Zea mays.
Dissert. Abstracts, 1966, 26, no 8, 4213.

78 - LAMIN, L.A.
Sur les Interrelations des Essences dans les Bandes Forestières des Zônes Steppiques et des Steppes Arborées de la Sibérie Occidentale (en russe).
Izvest. sibir. Otdel. Akad. Nauk SSSR, Ser. biol. med. Nauk., 1966, 4, no 1, 141-4. (résumé du CNRS, 27-17-9101).

79 - LEEMAN-LOPES, Mme G. et DUBECQ, X.J.
Résultats Expérimentaux Concernant une Inhibition de Développement Obtenue à partir de Plantes Exclusives.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1966, 105, 81-4.

80 - LEOPOLD, A.C.
Plant Growth and Development.
Mc Graw-Hill, New York, 1964, pp.144-155 et 304-325.

81 - LEOPOLD, A.C. et PLUMMER, T.H.
Auxin-Phenol Complexes.
Plant Physiol., 1961, 36, 589-92.

82 - LERNER, R.H. et EVENARI, M.
The Nature of the Germination Inhibitor Present in Leaves of Eucalyptus rostrata.
Physiol. Plant. (Danem.), 1961, 14, no 1, 221-9.

83 - MACE, M.E.
Isolation and Identification of 3-Indoleacetic Acid from Fusarium oxysporum f. Cubense.
Phytopathology, 1965, 55, no 2, 240-1.

84 - MACLACHLAN, G.A. et WAYGOOD, E.R.
Catalysis of Indoleacetic Acid Oxidation by Manganic Ions.
Physiol. Plantarum, 1956, 9, 321-30.

85 - MASQUELIER, J.
Recherches sur les Pigments de la Graine d'Arachide (Arachis hypogaea L.).
Thèse doct. Etat (Sciences), Bordeaux, 1948.

86 - MASQUELIER, J.
Action Comparée de Divers Facteurs Vitaminiques P sur l'Oxydation de l'Acide Ascorbique par les Ions Cuivriques.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, no 3-4, 302-3.

87 - MASQUELIER, J.
Action Comparée de Divers Facteurs Vitaminiques P sur l'Acide Ascorbique-Oxydase.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1951, 33, no 3-4, 304-5.

88 - MASQUELIER, J.
Leucoanthocyannes ou Leucotannoïdes ?
Volume Commémoratif du Centenaire de L. Braemer, 1958.

89 - MASQUELIER, J.
Communication Personnelle, 1968.

90 - MASQUELIER, J. et GRENIER, D.
Effet du Leucocyanidol sur le Catabolisme Auxinique.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1967, 49, no 12, 1807-12.

91 - MASQUELIER, J. et SANSOUS, G.
Un nouveau Facteur Vitaminique P Isolé du Pin des Landes.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1953, 91, 16.

92 - MAYER, A.M.
Biochemical Changes in Breaking and Inducing Dormancy in Seeds.
Proc. Symp. Cryptobiotic Stages biol. Syst. 5 th. Biol. Conf. Oholv, 1960, Elsevier Publisching Co., 1961, p.191-201.

93 - MAYER, A.M. et POLJAKOFF-MAYBER, A.
The Germination of Seeds.
Pergamon Press, London, 1966, p.82-98.

94 - MENDEZ, J.
Indole Auxins in Barley Seedlings.
Phytochem., 1967, 6, no 2, 313-15.

95 - MENDEZ, J., VASQUEZ, A., MATO, M.C. et VIEITEZ, E.
Direct and Synergistic Influence of Tweens on Avena Coleoptile Section Elongation.
Physiol. Plant. (Danem.), 1967, 20, no 2, 437-41.

96 - MICHAUD, J. et MASQUELIER, J.
Synthèse Directe des Leucoanthocyannes.
Communication Personnelle, 1968.

97 - MIKKELSEN, D.S. et SINAH, M.N.
Germination Inhibition in Oryza sativa and Control by Preplanting Soaking Treatments.
Crop. Sci. (USA), 1961, 1, no 5, 332-5.

98 - MILLER, C. et SKOOG, F.
Regulation of Growth in Tobacco Tissue Cultures.
Plant Physiol., 1955, 30, XXXV.

99 - MIYAMOTO, T., TOLBERT, N.E. et EVERSON, E.H.
Germination Inhibitors Related to Dormancy in Wheat Seeds.
Plant Physiol., 1961, 36, no 6, 739-46.

100 - MONIN, J.
Action de l'Acide Trans-para-coumarique sur la Dormance des Embryons d'Evonymus Europaeus L.
C.R. Acad. Sci. Fr. D., 1967, 264, no 26,2999-3001.

101 - MORELAND,D.E.,EGLEY,G.H.,WORSHAM,A.D. et MONACO,T.J.
Regulation of Plant Growth by Constituants from Higher Plants.
Adv. Chem. Sci. (USA), 1966, no 53, 112-41.

102 - MORGAN, P.W.
Distribution of Indoleacetic Acid Oxidase and Inhibitors in Light-Grown Cotton.
Plant Physiol., 1964, 39, no 5, 741-6.

103 - MORGAN, P.W. et HALL, W.C.
Indoleacetic Acid Oxidising enzyme and Inhibitors from Light-Grown Cotton.
Plant Physiol., 1963, 38, 365-70.

104 - MORGAN, P.W., JOHAM, H.E. et AMIN, J.V.
Effect of Manganese Toxicity on the Indoleacetic Acid Oxidase System of Cotton (Gossipium hirsutum L.).
Plant. Physiol., 1966, 41, no 4, 718-24.

105 - NITSCH, J.P. et NITSCH, C.
Studies on the Growth of Coleoptile and First Internode Sections. A New, Sensitive, Straight-Growth Test for Auxins.
Plant Physiol., 1956, 31, 94-111.

106 - NITSCH, J.P. et NITSCH, C.
Synergie d'Action entre les Dérivés de l'Acide chlorogénique et l'Acide 3-Indoleacétique.
Bull. Soc. Bot. France, 1959 (paru 1960), 106, no 9, 414-7.

107 - NITSCH, J.P. et NITSCH, C.
Composés Phénoliques et Croissance Végétale.
Ann. Physiol. vég., Fr., 1962, 4, no 3, 211-25.

108 - NITSCH, J.P. et PARIS, R.
Effets de l'Astragaline, du Tiliroside et de la Goratensidine sur le Test "Mésocotyle".
Bull. Soc. bot. Fr., 1962 (paru 1963), 109, no 9, 241-4.

109 - NORD, E.C. et VAN ATTA, G.R.
Saponin, a Seed Germination Inhibitor.
Forest Sci. (USA), 1960, 6, no 4, 350-3.

110 - NOVACKY, A. et MACKO, V.
Indoleacetic Acid Oxidase in Winter Wheat Infected with Dwarf Bunt.
Naturwissenschaften, 1964, 51, no 23, 562-3.

111 - OCHESANU, C. et BARBAT, I.
The Antagonism between Flowering Stimulators and Inhibitors in Perilla ocymoides.
Rev. Roumaine Biol. Bot., 1967, 12, no 2-3, 187-91.

112 - OHWAKI, Y.
Thin-Layer Chromatography of Diffusible Auxin of Corn Coleoptiles.
Bot. Mag. (Tokyo), 1966, 79, no 934, 200-1.

113 - PENON, P., TEISSERE, M., CECCHINI, J.P., NARI, J. et RICARD, J.
Contribution à l'Etude des Peroxydases Associées aux Ribosomes dans la Racine de Lentille (Lens culinaris Med.).
C.R. Acad. Sci. "D". Fr., 1967, 265, no 3, 276-8.

114 - PHILLIPS, I.D.J.
Some Interaction of Gibberellic Acid with Naringenin in the Control of Dormancy and Growth in Plants.
J. exper. Bot. (G.B.), 1962, 13, no 38, 213-26.

115 - PHIPPS, Mme J.
La Plante Adulte de Tabac : Mise en Evidence et Répartition du Système Auxine-Oxydasique.
C.R. Acad. Sci. Fr., 1965, 261, no 19, 3864-7.

116 - PILET, P.E.
Analyse Biochromatographique des Auxines Radiculaires.
Rev. gén. Bot., 1958, 65, 605-33.

117 - PILET, P.E.
Les Phytohormones de Croissance.
Masson et Cie, 1961, 774 p.

118 - PILET, P.E.
Sur 2 Inhibiteurs Radiculaires.
C.R. Acad. Sci. Fr., 1963, 256, no 6, 1348-50.

119 - PILET, P.E.
Effect of Chlorogenic Acid on the Auxin Catabolism and the Auxin Content of Root Tissues.
Phytochemistry, 1964, 3, no 5, 617-21.

120 - PILET, P.E.
Action of Traumatic Acid on the Growth, the Auxin Catabolism and the Auxin Content.
Physiol. Plant., 1965, 18, no 4, 1121-9.

121 - PILET, P.E.
Le Catabolisme Auxinique : Définition et Premiers Travaux.
Année Biol., Fr., 1965, 4, no 7-8, 419-36.

122 - PILET, P.E.
Effect of p-Hydroxybenzoic Acid on Growth, Auxin Content and Auxin Catabolism.
Phytochemistry, 1966, 5, no 1, 77-82.

123 - PILET, P.E.
Un Effet de Rétroaction (feed-back) Auxines-Oxydasique.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1966, 263, no 12, 864-7.

124 - PILET, P.E.
A propos de la Spécificité des Systèmes Auxines-Oxydasiques.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1967, 264, no 4, 592-5.

125 - PILET, P.E. et DUBOUCHET, J.
Proposition d'un Test "Coléoptile" (Triticum) pour le Dosage Auxinique.
Rev. Gén. Botan. n° 822.

126 - PILET, P.E. et GASPAR, T.
Analyse Critique de l'Activité Auxines-Oxydasique des Racines du Lens.
Physiol. Plant., 1964, 17, 324-30.

127 - PILET, P.E. et GASPAR, T.
Action des Acides o-, m-, et p-Hydroxybenzoïques sur le Catabolisme Auxinique et la Croissance.
Ann. Physiol. Vég. Fr., 1965, 7, no 3, 147-55.

128 - PILET, P.E., KOBR, M. et SIEGENTHALER, P.A.
Proposition d'un Test "Racine" (Lens) pour le Dosage Auxinique.
Rev. Gén. Bot., 1960, 67, 573-601.

129 - PILET, P.E. et NOWAKOWSKI, W.
Action de l'Acide β-Indolyl-Acétique sur le Phosphore des Racines du Lens.
C.R. Acad. Sci. Fr., 1966, 262, no 20, 2156-8.

130 - PLATT, R.S. et THIMANN, K.V.
Interference in Salkowski Assay of Indole-Acetic Acid.
Science, 1956, 123, 105-6.

131 - PLEIADE, ENCYCLOPEDIE DE
Botanique, Gallimard, 1960, p.1350-9.

132 - PLOTNIKOVA, I.V., RUNKOVA,L.V. et UGOLIK, N.A.
L'Effet des Polyphénols sur la Croissance des Coléoptiles de L'Hybride no 1 Blé A-Gropyron (en russe).
Bjull. glavn. bot. Sasa SSSR, 1967, no 64, 71-6 (résumé du CNRS, 28-17-6577).

133 - POAPST, P.A., DURKEE, A.B. et NELSON, S.H.
A Modified Bean Root Initiation Test for Auxins and Inhibitors.
Canad. J. Plant. Sci., 1967, 47, no 3, 263-8.

134 - RABIN, R.S. et KLEIN, R.M.
Chlorogenic Acid as a Competitive Inhibitor of Indoleacetic Acid Oxidase.
Archiv. Biochem. Biophys., 1957, 70, 11-15.

135 - RAGHUVANSKI, S.S. et JOSHI, S.
Studies on the Comparative Effects of certain Chemicals on the Polyploidising Efficiency of Colchicine in Trigonella "foenum graecum".
Caryologia, Ital., 1965, 18, no 1, 69-84.

136 - RAY, P.M.
The destruction of IAA. II-Spectrophotometric Study of the Enzymatic Reaction.
Arch. Biochem. Biophys., 1956, 64, 193-216.

137 - RAY, P.M.
Destruction of Auxin.
Ann. Rev. Plant. Physiol., 1958, 9, 81-118.

138 - RAY, P.M.
The Destruction of Indoleacetic Acid. III-Relationship between Peroxidase Action and Indoleacetic Acid Oxidation.
Arch.Biochem.Biophys.,1960,87, 19-30.

139 - RAY, P.M. et THIMANN, K.V.
The Destruction of Indoleacetic Acid. I-Action of an Enzyme from Omphalia flavida.
Arch. Biochem. Biophys., 1956, 64, 175-92.

140 - REMPE, E.K.
La Croissance des Plantes dans les Conditions d'Accumulation des Sécrétions Radiculaires (en russe).
Sel'skokhozjajstv. Biol SSSR, 1967, 2, no 4,592-7 (résumé anglais).

141 - RICARD, J. et NARI, J.
Réduction de la Peroxydase de Raifort par l'Acide β-Indolyl-Acétique.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 1966, 262, no 17,1898-1900.

142 - RICE, E.L.
Inhibition of Nitrogen-Fixing and Nitrifying Bacteria by Seed Plants. II-Characterization and Identification of Inhibitors.
Physiol. Plant., 1965, 18, 255-68.

143 - RITZERT, R.W., SELL, H.M. et BUKOVAC, M.J.
The Interrelationship of Indole-3-Acetic Acid,Catechin and Indole-3-Acetic Acid Oxidase in Immature Peach Seeds.
Plant. Physiol. (USA), 1965, 40, suppl. VIII.

144 - RIVIERE, J.
Action des Microorganismes de la Rhizosphère sur la Croissance du Blé. III-Isolement et Identification des Bactéries Dégradant l'Acide Indole-3-Acétique.
Ann. Inst. Pasteur (Paris), 1964, no 3, suppl.250-6.

145 - ROSEN, W.G.
A possible Mechanism for Inhibition of Plant Growth by Streptomycin.
Plant. Physiol., 1957, 32, suppl. VIII.

146 - SHANTZ, E.M. et STEWARD, F.C.
The General Nature of Some Nitrogen-Free Growth-Promoting Substances from Aesculus and Cocos.
Plant. Physiol., 1955, 30, suppl.XXXV.

147 - SHANTZ, E.M. et STEWARD, F.C.
The Growth Stimulating Substances in Extracts of Immature Corn Grain.
Plant. Physiol., 1957, 32, suppl. VIII.

148 - SHIBAOKA, H.
Comparative Studies on the Growth Inhibition by Caffeic and Trans-Cinnamic Acids.
Bot. Mag. Jap., 1962, 75, no 889, 264-69.

149 - SIEGEL, B.Z. et GALSTON, A.W.
Indoleacetic Acid Oxidase Activity of Apopoperoxidase.
Science, 1967, 157, 1557-9.

150 - SIKDER, H.P.
Dormancy of Paddy Seeds in Relation to Different Seed Treatments.
Expl. Agric., 1967, 3, no 3, 249-55.

151 - SMITH, H. et KEFFORD, N.P.
The Chemical Regulation of the Dormancy Phases of Bud Development.
Amer. J. Bot., 1964, 51, no 9, 1002-12.

152 - SONDHEIMER, E.
The Chlorogenic Acids and Related Compounds.
In : "Plant Phenolics and their Industrial Significance".
Symposium of the Plant Phenolic Group of North America (Oregon), V.C. Runeckles Ed.,1962,p.15-38.

153 - STENLID, G.
On the Effects of Some Flavonoid Pigments upon Growth and Ion Absorption of Wheat Roots.
Physiol. Plant. (Danem.), 1961, 14, no 3, 659-70.

154 - STENLID, G.
The Effects of Flavonoid Compounds on Oxidative Phosphorylation and on the Enzymatic Destruction of Indoleacetic Acid.
Physiol. Plant., 1963, 16, 110-20.

155 - STRONY, F.M., OKAMURA, F.S., VON SALTZA, M.H., MILLER, C.O. et SKOOG, F.
Kinetin and other Substances Affecting Plant Growth.
Plant Physiol., 1955, 30, XXXV.

156 - STRYDOM, D.K. et HARTMANN, H.T.
Absorption, Distribution and Destruction of Indoleacetic Acid in Plum Stem Cuttings.
Plant Physiol., 1960, 35, 435-42.

157 - TAFURI, F.
IAA Determination in the Kernels of Four Lines of Corn and of their Hybrids.
Phytochemistry, 1966, 5, no 5, 999-1003.

158 - TAYEAU, F. et MASQUELIER, J.
Localisation de l'Arachidoside dans la Graine d'Arachide.
Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1947, 85, 7.

159 - TAYEAU, F., NIVET, R.,MARQUEVIELLE,J. et DUMAS,M.
Action du Leucocyanidol sur le Sérum Sanguin In Vitro.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1958, 40, no 4, 671-82.

160 - THIMANN, K.V., TOMASZEWSKI, M. et PORTER, W.L.
Growth Promoting Activity of Caffeic Acid.
Nature, 1962, 193, no 4821, 1203.

161 - TOMASZEWSKI, M.
The Mechanism of Synergistic Effects Between Auxin and some Natural Phenolic Substances.
In : "Régulateurs Naturels de la Croissance Végétale", CNRS, Paris, 1964, p.335-51.

162 - TOMASZEWSKI, M. et THIMANN, K.V.
Interaction of Phenolic Acids, Metallic Ions and Chelating Agents on Auxin-Induced Growth.
Plant Physiol., 1966, 41, no 9, 1443-54.

163 - TORREY, J.G. et coll. tech. BONNET, H. et MERKEL,Mrs N.
A Chemical Inhibitor of Auxin-Induced Lateral Root Initiation in Roots of Pisum.
Physiol. Plant., 1959, 12, no 4, 873-87.

164 - TULI, V. et MOYED, H.S.
Inhibitory Oxidation Products of Indole-3-Acetic Acid : 3-Hydroxymethyloxindole and 3-Methyleneoxindole as Plant Metabolites.
Plant Physiol. (USA), 1967, 42, no 3, 425-30.

165 - UMBREIT, W.W., BURRIS, R.H. et STAUFFER, J.F.
Manometric Techniques.
Burgess Publishing Co. (Minneapolis), 1957, 338 p.

166 - VAN OVERBEEK, J.
Plant Hormones and Regulators. Gibberellins, Cytokinins and Auxins may Regulate Plant Growth via Nucleic Acid and Enzyme Synthesis.
Science, 1966, 152, no 3723, 721-31.

167 - VARGA,M. et KOVES,E.
Effect of Phenolic Compounds on the Activity of Indoleacetic Acid Oxidase.
Acta Biol. Acad. Sci. Hungaricae, 1962, 13,273-81.

168 - VENDRIG, J.C. et BUFFEL, K.
Growth-Stimulating Activity of Trans-Caffeic Acid Isolated from Coleus rhenaltianus.
Nature (G.B.), 1961, 192, no 4799, 276-7.

169 - WHITMORE, F.W. et ZAHNER, R.
Indoleacetic Acid Synthesis by Polyphenols in the Extraction of Pinus Phloem and Cambial Tissue.
Science, 1964, 145, no 3628, 166-7.

170 - WINTER, A. et THIMANN, K.V.
Bound Indoleacetic Acid in Avena Coleoptiles.
Plant Physiol., 1966, 41, no 2, 335-42.

171 - YONEDA, Y. et STONIER, T.
Elongation of Stem Internodes in the Japanese Morning Glory (Pharbitis Mil.) in Relation to Auxin Destruction.
Physiol. Plantarum (Danem.), 1966, 19, no 4, 977-81.

172 - ZENK, M.H.
Isolation, Biosynthesis and Function of Indoleacetic Acid Conjugates.
In : "Régulateurs Naturels de Croissance Végétale", Gif-sur-Yvette, 1963, Paris CNRS 1964, p.241-9.

173 - ZENK, M.H. et MULLER, G.
In Vivo Destruction of Exogenously Applied Indolyl-3-Acetic Acid as Influenced by Naturally Occuring Phenolic Acids.
Nature, 1963, 200, no 4908, 761-3.

174 - ZINSMEISTER, H.D. et HOLLMULLER, W.
Tannins and Growth. III-Analysis of the IAA/Tannin Antagonism in Oat-Coleoptile Cylinders (en allemand).
Planta (Berlin), 1967, 73, no 11, 333-43 (résumé anglais).

Editions BERGERET-2,rue Bergeret-Bordeaux-Tél.91.12.59 -

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION 5

- P R E M I E R E P A R T I E - ETAT DE LA QUESTION... 9

CHAPITRE I - INHIBITION DE LA GERMINATION ET DE LA CROISSANCE 13

A) NAISSANCE ET EVOLUTION DES THEORIES CONCEPT MODERNE 13

B) NATURE CHIMIQUE DES INHIBITEURS..... 14

1) Inhibiteurs Volatils..... 14
2) Inhibiteurs Non Volatils 15
a) Hétérosides 15
b) Lactones 17
c) Amino-Acides 18
d) Substances Phénoliques 19
- Complexe Inhibiteur β 24
e) Autres Inhibiteurs 24

C) ROLE DES INHIBITEURS CHEZ LE VEGETAL..... 27

1) Dormance 28
a) Dormance des Bourgeons 28
b) Dominance Apicale 29
c) Dormance des Graines 29
2) Ecologie 33
Les Plantes Exclusives 33

D) MECANISME D'ACTION DES INHIBITEURS NATURELS 35

1) Coumarine 36
2) Inhibiteurs Phénoliques 37

Pages

CHAPITRE II - INHIBITEURS SYNERGIQUES 43

A) LES PHYTOHORMONES 45

1) Auxines 45
a) Découverte 45
b) Nature Chimique et Extraction 46
c) Produits de Synthèse 51
- Composés Indoliques 52
- Acides Naphtalène-Acétiques 53
- Acides Phénoxyacétiques 53
- Acides Benzoïques 54
d) Rôle et Effets des Auxines 55
α-Croissance 55
β-Tropismes 56
γ-Mérèse 56
δ-Organogénèse 57
2) Gibbérellines 57
3) Kinines 60
4) Autres Phytohormones 62

B) DESTRUCTION ENZYMATIQUE DE L'AIA
LES AUXINES-OXYDASES 64

1) Définition 64
2) Distribution des Auxines-Oxydases dans le Règne Végétal et à l'Intérieur des Plantes Elles-mêmes 64
3) Nature Chimique 66
4) Mécanisme de la Réaction Enzymatique 69
- Action des Phénoloxydases 73
5) Produits de la Réaction 73
6) AIA-Oxydase et Physiologie 75
a) Sénescence 76
b) Dominance Apicale 76
c) Chute des Feuilles 77
d) Différenciation des Tissus 77
e) Nanisme 77

C) LE PHENOMENE SYNERGIQUE ET SON EXPLICATION 79

1) Potentialisation de la Croissance Auxinique 79
2) Explication du Phénomène 94
3) Mécanisme d'Action des Inhibiteurs de l'AIA-O 97

Pages

- D E U X I E M E P A R T I E - ETUDE DU LEUCOCYANIDOL 101

A) REPARTITION BOTANIQUE 103

B) NATURE CHIMIQUE 107
Divers Etats de Condensation 110

C) MODE D'EXTRACTION 113

D) SYNTHESE DU PROCYANIDOL (LEUCOCYANIDOL MONOMERE) 114

E) ETUDE DU SPECTRE ULTRA-VIOLET 118

1) Spectre Normal 118
2) Modification du Spectre par les Métaux Lourds 118
TECHNIQUE 118
RESULTATS 118
a) Manganèse 118
b) Cuivre 119
c) Fer 119
3) Conclusions 122

- T R O I S I E M E P A R T I E - RECHERCHES EXPERIMENTALES 123

CHAPITRE I - EFFETS SUR LA GERMINATION 125

SECTION A - ACTION DES PLANTES EXCLUSIVES 126

1) CISTACEES 126
a) Action des Extraits Aqueux de Cistes 126
TECHNIQUES 126
- Tests de Germination 126
- Préparation de la Solution-Mère de Cistes 126
RESULTATS 127
b) Effet de la Chaleur sur l'Activité de l'Extrait Aqueux de Cistes..... 128
TECHNIQUE 128
RESULTATS 128
c) Action sur la Croissance des Racines une fois la Germination Amorcée Librement 129

Pages

TECHNIQUE 130
RESULTATS 130

d) Actions Comparées de la Poudre de Cistes et de la Colchicine 130
RESULTATS 130
e) Préparation d'un Extrait Fluide Concentré à 50 % 131
f) Action de l'Extrait à 50 % et de ses différentes Dilutions 132
g) Influence du pH 134

2) PIN MARITIME 134

TECHNIQUE 135
RESULTATS 135

- Essais Comparatifs entre Deux Sols 137
PROTOCOLE 137

a) Test de Fixation au Sol 137
TECHNIQUE 137
RESULTATS 138

b) Test d'Epuisement des Aiguilles en Principes(s) Actif(s) 138
TECHNIQUE 138
RESULTATS 138

SECTION B - ACTION DU LEUCOCYANIDOL 139

1) Mise en Evidence des Leucoanthocyannes chez les Végétaux 139
TECHNIQUE 139
RESULTATS 139

2) Action du Leucocyanidol sur la Germination 139
RESULTATS 139

3) Action du Leucocyanidol sur la Rhizogénèse (Bouturage du Peuplier) 141
TECHNIQUE 141
RESULTATS 141

4) Action des Microorganismes sur le Leucocyanidol 141
RESULTATS 141

- Conclusion 143

Pages

SECTION C - A LA RECHERCHE D'UN MECANISME D'ACTION DES INHIBITEURS 143

Action du Leucocyanidol sur la Respiration des Graines 144
TECHNIQUE 145
RESULTATS 145
- Conclusion 148

CONCLUSIONS PRATIQUES 148

CHAPITRE II - EFFETS DU LEUCOCYANIDOL SUR LA CROISSANCE AUXINIQUE 151

A) ACTION SUR LA CROISSANCE ELLE-MEME 151
TECHNIQUE 152
RESULTATS 153

B) ACTION SUR L'ACIDE INDOLEACETIQUE-OXYDASE (AIA-O) 155
TECHNIQUES 155

1) Préparation Enzymatique d'AIA-O 155
2) Incubation Enzymatique 156
3) Extraction 156
4) Chromatographie sur Papier 157
5) Examen Spectrophotométrique 157
a) Incubation Enzymatique et Extraction 157
b) Chromatographie en Couches Minces 157
c) Lecture Spectrophotométrique 157

RESULTATS 158

1) Chromatographie sur Papier 158
2) Examen Spectrophotométrique 159

C) MECANISME DU BLOCAGE DE L'AIA-O PAR LE LEUCOCYANIDOL 160

1) Précipitation des Protéines 161
2) Inhibition Compétitive 161
3) Formation de Complexes avec l'AIA 161
TECHNIQUE 162
Chromatographie sur Papier 162

Pages

RESULTATS 162

4) Chélation du Constituant Métallique de l'Enzyme 164

DISCUSSION 165

D) CONCLUSIONS PRATIQUES 165

CONCLUSIONS GENERALES 167

BIBLIOGRAPHIE 171

EDITIONS BERGERET- 2, rue Bergeret, BORDEAUX.Tél. 91.12.59

DEUXIEME THESE

Proposition donnée par la Faculté :

LES DERIVES ANTHRACÉNIQUES DU SÉNÉ

Vu,
Le Doyen :
F. TAYEAU

Bon à imprimer
Le Président de Thèse :
J. MASQUELIER

Vu et permis d'imprimer
Bordeaux, le 14 mai 1968
Le Recteur de l'Université
J. BABIN